"十二五"普通高等教育本科国家级规划教材

卫生部"十二五"规划教材

全国高等医药教材建设研究会"十二五"规划教材

全国高等学校教材

供基础、临床、预防、口腔医学类专业用

医学微生物学

Medical Microbiology

第8版

主　审　刘晶星

主　编　李　凡　徐志凯

副主编　黄　敏　郭晓奎

人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

"十二五"普通高等教育本科国家级规划教材

卫生部"十二五"规划教材
全国高等医药教材建设研究会"十二五"规划教材
全国高等学校教材

供基础、临床、预防、口腔医学类专业用

医学微生物学

Medical Microbiology

第8版

主　审　刘晶星

主　编　李　凡　徐志凯

副主编　黄　敏　郭晓奎

编　者（以姓氏笔画为序）

王　丽（吉林大学白求恩医学部）
王明丽（安徽医科大学）
江丽芳（中山大学中山医学院）
汤　华（天津医科大学）
严　杰（浙江大学医学院）
李　凡（吉林大学白求恩医学部）
李明远（四川大学华西医学中心）
杨　春（重庆医科大学）
吴兴安（第四军医大学）
吴移谋（南华大学医学院）
张力平（首都医科大学）
张凤民（哈尔滨医科大学）
陈利玉（中南大学湘雅医学院）
赵蔚明（山东大学医学院）
胡福泉（第三军医大学）
徐志凯（第四军医大学）
郭晓奎（上海交通大学医学院）
黄　敏（大连医科大学）
彭宜红（北京大学医学部）
楚雍烈（西安交通大学医学院）
廖　芳（华中科技大学同济医学院）
瞿　涤（复旦大学上海医学院）

人民卫生出版社

图书在版编目（CIP）数据

医学微生物学/李凡，徐志凯主编．—8版．—北京：人民卫生出版社，2013

ISBN 978-7-117-17152-6

Ⅰ．①医… Ⅱ．①李… ②徐… Ⅲ．①医学微生物学-医学院校-教材 Ⅳ．①R37

中国版本图书馆CIP数据核字（2013）第064549号

医学微生物学

第8版

主　　编：李　凡　徐志凯

出版发行：人民卫生出版社（中继线 010-59780011）

地　　址：北京市朝阳区潘家园南里19号

邮　　编：100021

E - mail：pmph @ pmph.com

购书热线：010-59787592　010-59787584　010-65264830

印　　刷：北京人卫印刷厂

经　　销：新华书店

开　　本：850 × 1168　1/16　　印张：24

字　　数：660千字

版　　次：1979年6月第1版　　2013年3月第8版

2013年3月第8版第1次印刷（总第59次印刷）

标准书号：ISBN 978-7-117-17152-6/R·17153

定　　价：52.00元

全国高等学校五年制本科临床医学专业

第八轮 规划教材修订说明

全国高等学校五年制本科临床医学专业卫生部规划教材自 1978 年第一轮出版至今已有 35 年的历史。几十年来，在教育部、卫生部的领导和支持下，以裘法祖、吴阶平、吴孟超、陈灏珠等院士为代表的我国几代德高望重、有丰富的临床和教学经验、有高度责任感和敬业精神的国内外著名院士、专家、医学家、教育家参与了本套教材的创建和每一轮教材的修订工作，使我国的五年制本科临床医学教材从无到有，从少到多，从多到精，不断丰富、完善与创新，形成了课程门类齐全、学科系统优化、内容衔接合理、结构体系科学的由规划教材、配套教材、配套光盘、数字出版、网络增值服务组成的立体化教材格局。这套教材为我国千百万医学生的培养和成才提供了根本保障，为我国培养了一代又一代高水平、高素质的合格医学人才，为推动我国医疗卫生事业的改革和发展做出了历史性巨大贡献，并通过教材的创新建设和高质量发展，推动了我国高等医学本科教育的改革和发展，促进了我国医药学相关学科或领域的教材建设和教育发展，走出了一条适合中国医药学教育和卫生事业发展实际的具有中国特色医药学教材建设和发展的道路，创建了中国特色医药学教育教材建设模式。老一辈医学教育家和科学家们亲切地称这套教材是中国医学教育的"干细胞"教材。

本套第八轮教材修订启动之时，正是全球医学教育百年反思之际，更是我国医疗卫生体制改革和医学教育改革全方位深入推进之时，教育部、卫生部共同召开了全国医学教育改革工作会议，启动了"5+3"为主体的临床医学教育综合改革，形成了以医改推动教改，教改服务医改的历史发展格局。人民卫生出版社和全国高等医药教材建设研究会紧紧抓住医学教育综合改革的历史发展机遇期，以全国高等学校五年制本科临床医学专业第八轮规划教材全面启动为契机，以规划教材创新建设，全面推进国家级规划教材建设工作，服务于医改和教改。

第八轮教材的修订原则是积极贯彻落实教育部、卫生部关于实施临床医学教育综合改革的意见，努力优化人才培养结构，坚持以需求为导向，构建发展以"5+3"模式为主体的临床医学人才培养体系；改革课程体系、教学内容、教学方法和评价考核办法；将医德教育贯穿于医学教育的全过程，强化临床实践教学，采取多种措施，切实落实好"早临床、多临床、反复临床"的要求，提高医学生的临床实践能力。

在全国医学教育综合改革精神鼓舞下和老一辈医学家奉献精神的感召下，全国一大批临床教学、科研、医疗第一线的中青年专家、学者、教授继承和发扬了老一辈的优秀传统，以严谨治学的科学态度和无私奉献的敬业精神，积极参与第八轮教材的修订和建设工作，紧密结合五年制临床医学专业培养目标、高等医学教育教学改革的需要和医药卫生行业人才的需求，借鉴国内外医学教育教学的经验和成果，不断创新编写思路和编写模式，不断完善表现形式和内容，不断提升编写水平和质量，已逐渐将每一部教材打造成了学科精品教材，使第八轮全套教材更加成熟、完善和科学，从而构建了适合"5+3"为主体的医学教育综合改革需要和卓越临床医师培养需求的教材体系，推动了适合中国国情的五年制本科临床医学专业课程体系的建设。

本次修订和编写特点如下：

1. 教材编写修订工作是在教育部、卫生部的领导和支持下，按照“5+3”为主体的临床医学教育综合改革的时间表、路线图和施工图进行顶层设计，由全国高等医药教材建设研究会规划，全国临床医学专业教材评审委员会审定，院士、专家把关，全国各医学院校知名专家、教授编写，人民卫生出版社高质量精品出版。

2. 教材编写修订工作是根据教育部培养目标、卫生部行业要求、社会用人需求，在全国进行科学调研的基础上，借鉴国内外医学人才培养模式和教材建设经验，充分研究论证本专业人才素质要求、学科体系构成、课程体系设计和教材体系规划后，科学进行的。

3. 在全国广泛、深入调研的基础上，总结和汲取了前七轮教材的编写经验和成果，尤其是对一些不足之处进行了大量的修改和完善，并在充分体现科学性、权威性的基础上，更考虑其全国范围的代表性和适用性。

4. 教材编写修订工作着力进行课程体系的优化改革和教材体系的建设创新——科学整合课程、淡化学科意识、实现整体优化、注重系统科学、保证点面结合。继续坚持“三基、五性、三特定”的教材编写原则，以确保教材质量。

5. 为配合教学改革的需要、减轻学生负担和体现“干细胞”教材特色，全套教材精炼文字、压缩字数，注重提高内容质量，并根据学科需要，采用大16开国际开本、双色或彩色印刷，以提高印装质量和可读性。同时，在每一页都增加了留白，便于学生记录和标记书中重点知识。

6. 为满足教学资源的多样化需求，实现教材系列化、立体化和数字化建设，大部分教材配有配套教材和数字出版的教学资料，并实现了全套教材的网络增值服务，方便老师教学和学生自主学习，实现了数字化资源共享。

第八轮教材共有53种，其中新增2种，即《医患沟通》和《肿瘤学概论》；更名1种，即《急诊医学》更名为《急诊与灾难医学》；合并2种，即《生物化学》与《医学分子生物学》合并为《生物化学与分子生物学》。全套教材均为**“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材**（除《肿瘤学概论》外）和**卫生部“十二五”规划教材**，于2013年6月全部出版发行。

本套教材是在我国医学教育综合改革，构建“5+3”为主体的临床医学人才培养体系背景下组织编写的，希望全国广大院校在使用过程中能够多提供宝贵意见，反馈使用信息，以逐步修改和完善教材内容，提高教材质量，为第九轮教材的修订工作建言献策。

全国高等学校五年制本科临床医学专业
第八轮 教材目录

1.	医用高等数学	第 6 版	主编　张选群	副主编　马建忠　吕　丹　刘春扬
2.	医学物理学	第 8 版	主编　王　磊　冀　敏	副主编　李晓春　吴明海
3.	基础化学	第 8 版	主编　魏祖期　刘德育	副主编　李雪华　陈朝军
4.	有机化学	第 8 版	主编　陆　阳　刘俊义	副主编　叶　玲　邓　健
5.	医学生物学	第 8 版	主编　傅松滨	副主编　王培林　刘　佳
6.	系统解剖学	第 8 版	主编　柏树令　应大君	副主编　丁文龙　刘学政　孙晋浩
7.	局部解剖学	第 8 版	主编　刘树伟　李瑞锡	副主编　张绍祥　羊惠君
8.	组织学与胚胎学	第 8 版	主编　邹仲之　李继承	副主编　曾园山　周　莉
9.	生物化学与分子生物学	第 8 版	主编　查锡良　药立波	副主编　周春燕　冯作化　方定志　何凤田
10.	生理学	第 8 版	主编　朱大年　王庭槐	副主编　罗自强　管又飞　金学隆
11.	医学微生物学	第 8 版	主编　李　凡　徐志凯	副主编　黄　敏　郭晓奎
12.	人体寄生虫学	第 8 版	主编　诸欣平　苏　川	副主编　吴忠道　李朝品
13.	医学免疫学	第 6 版	主编　曹雪涛	副主编　熊思东　姚　智
14.	病理学	第 8 版	主编　李玉林	副主编　文继舫　唐建武　来茂德　步　宏
15.	病理生理学	第 8 版	主编　王建枝　殷莲华	副主编　吴立玲　孙连坤　李文斌
16.	药理学	第 8 版	主编　杨宝峰	副主编　苏定冯
17.	医学心理学	第 6 版	主编　姚树桥　杨彦春	副主编　杨艳杰　潘　芳　赵旭东
18.	法医学	第 6 版	主编　王保捷　侯一平	副主编　丛　斌　赵子琴
19.	诊断学	第 8 版	主编　万学红　卢雪峰	副主编　刘成玉　胡申江　康熙雄　杨　炯
20.	医学影像学	第 7 版	主编　白人驹　徐　克	副主编　韩　萍　龚启勇　张雪林　王　滨
21.	内科学	第 8 版	主编　葛均波　徐永健	副主编　梅长林　唐承薇　王　辰　周　晋
22.	外科学	第 8 版	主编　陈孝平　汪建平	副主编　秦新裕　刘玉村　张英泽
23.	妇产科学	第 8 版	主编　谢　幸　苟文丽	副主编　林仲秋　狄　文　马　丁　孔北华
24.	儿科学	第 8 版	主编　王卫平	副主编　毛　萌　李廷玉　申昆玲　常立文
25.	神经病学	第 7 版	主编　贾建平　陈生弟	副主编　崔丽英　王　伟
26.	精神病学	第 7 版	主编　郝　伟　于　欣	副主编　许　毅　吴爱勤　李　涛　刘金同

27.	传染病学	第 8 版	主编 李兰娟 任 红	副主编 高志良 牛俊奇
28.	眼科学	第 8 版	主编 赵堪兴 杨培增	副主编 瞿 佳 姚 克
29.	耳鼻咽喉头颈外科学	第 8 版	主编 田勇泉	副主编 韩东一 迟放鲁 孙爱华
30.	口腔科学	第 8 版	主编 张志愿 俞光岩	副主编 凌均棨 杨丕山
31.	皮肤性病学	第 8 版	主编 张学军	副主编 陆洪光 高兴华
32.	核医学	第 8 版	主编 李少林 王荣福	副主编 张永学 匡安仁
33.	流行病学	第 8 版	主编 沈洪兵 齐秀英	副主编 刘 民 叶冬青
34.	卫生学	第 8 版	主编 朱启星	副主编 牛 侨 吴小南
35.	预防医学	第 6 版	主编 傅 华	副主编 段广才 黄国伟
36.	中医学	第 8 版	主编 高鹏翔	副主编 卜 平 陈金水 陈利国
37.	医学计算机应用	第 5 版	主编 袁同山 阳小华	副主编 白宝钢
38.	体育	第 5 版	主编 裴海泓	副主编 程 鹏
39.	医学细胞生物学	第 5 版	主编 陈誉华	副主编 杨 恬 刘艳平
40.	医学遗传学	第 6 版	主编 左 伋	副主编 顾鸣敏 张咸宁
41.	临床药理学	第 5 版	主编 李 俊	副主编 刘克辛 袁 洪
42.	医学统计学	第 6 版	主编 李 康 贺 佳	副主编 杨土保 马 骏
43.	医学伦理学	第 4 版	主编 孙福川 王明旭	副主编 陈晓阳 宫福清
44.	临床流行病学与循证医学	第 4 版	主编 刘续宝 王素萍	副主编 孙业桓 时景璞
45.	康复医学	第 5 版	主编 黄晓琳 燕铁斌	副主编 王宁华 励建安
46.	医学文献检索与论文写作	第 4 版	主编 郭继军	副主编 马 路 张 帆
47.	卫生法	第 4 版	主编 汪建荣	副主编 达庆东 田 侃
48.	医学导论	第 4 版	主编 马建辉 闻德亮	副主编 肖海鹏 郭永松 曹德品
49.	全科医学概论	第 4 版	主编 祝墡珠	副主编 胡传来 路孝琴
50.	麻醉学	第 3 版	主编 杨拔贤 李文志	副主编 刘 进 姚尚龙 郭曲练 邓小明
51.	急诊与灾难医学	第 2 版	主编 沈 洪 刘中民	副主编 王育珊 周荣斌 于学忠
52.	医患沟通		主编 王锦帆 尹 梅	副主编 唐宏宇 赵明杰
53.	肿瘤学概论		主编 王冠军 赫 捷	副主编 张清媛 李 薇 周云峰

第六届全国高等学校五年制本科临床医学专业
教材评审委员会名单

序　言

高水平、高质量的医学教育既是办好人民满意教育的重要组成部分，也是医疗卫生事业改革发展的重要支撑。随着我国医药卫生体制改革的不断深入，对高等医学教育改革也提出了更高的要求。如何培养适应国家需要、人民满意的高质量、高水平医学人才是当前医学教育的首要任务。为此，在"十二五"开局之年，教育部和卫生部共同组织实施了医学教育综合改革。

医学教育综合改革要求我们深入贯彻落实教育规划纲要和医药卫生体制改革的意见，遵循医学教育规律，以改革创新为动力，着力于医学教育发展与医药卫生事业发展的紧密结合，着力于人才培养模式和体制、机制的重点突破，着力于医学生职业道德和临床实践能力的显著提升，着力于医学教育质量保障体系的明显加强，从而全面提高医学人才培养质量，为发展医药卫生事业和提高人民健康水平提供坚实的人才保障。

教材建设在提高人才培养质量中发挥着重要的基础性作用，对此教育部一直高度重视，要求以教材建设为抓手，推动医学课程和教学方法改革。一本好的教材，给医学生以正确的引导，给临床医生以正确的指导。人民卫生出版社作为国家级优秀出版单位，承担了大量教材的规划和出版工作，形成了课程种类齐全、学科体系合理、配套服务全面的教材出版模式。尤其是在以吴阶平、裘法祖、吴孟超、陈灏珠等院士为代表的老一辈医学大家的付出和带领下，在一大批医学教育精英的努力和参与下，其出版的五年制本科临床医学专业规划教材为我国医学界培养了一代又一代优秀的医药学人才，为推动我国医疗卫生事业的改革和发展做出了巨大的历史贡献。

此次第八轮五年制本科临床医学专业规划教材的修订工作是在贯彻党的十八大关于"深化教育领域综合改革"精神的背景下，在落实卫生部、教育部联合下发的《关于实施临床医学教育综合改革的若干意见》的基础上启动的。修订工作贯穿了医学教育综合改革的要求，特别是注重将医德教育贯穿于医学教育的全过程，增加了《医患沟通》一书，同时强化临床实践教学，配套编写了相关的实践指导，以提高医学生的临床实践能力。

我们相信，在教育、卫生系统的通力合作下，在广大医学教育工作者的大力支持和参与下，第八轮五年制本科临床医学专业规划教材的修订出版对推动医学教育综合改革，提高医学人才培养质量将产生积极的推动作用。

教育部部长助理
林蕙青
2013 年 3 月



李　凡

女，1956年8月生于吉林省长春市。现任吉林大学白求恩医学部常务副部长，吉林大学基础医学院病原生物学系教授、博士生导师。兼任教育部高等学校基础医学类专业教学指导委员会副主任委员，中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会副主任委员，中国微生物学会吉林省分会副理事长，中华医学会病毒学会委员，中华医学会微生物与免疫学会常委，国家自然科学基金终审专家，《吉林大学学报》(医学版)副主委，《中国实验诊断学》杂志编委。

从事教学工作至今30年。在医学微生物学教学及科研领域成绩卓著，是吉林省有突出贡献中青年专业技术人才、吉林省教学名师、吉林大学教学名师和吉林大学白求恩十大名师。培养博士研究生39名，硕士研究生41名。国家级实验教学示范中心、省级优秀教学团队等负责人。主编国家级"十一五"规划教材3部，获省级优秀教材一等奖2项、省级教学成果奖3项。在科研方面，主要围绕病原体新型检测技术、细菌耐药性及病毒学等领域开展研究工作，先后主持承担国家"973"课题和省部级科研课题14项，获省科技进步一等奖1项、二等奖2项、三等奖1项。在国内外有影响的杂志上发表论文百余篇，其中SCI收录论文20余篇。



徐志凯

男，1955年2月出生于江苏省南京市。现任第四军医大学微生物学教研室(国家重点学科)及全军病原微生物防治基础重点实验室主任、教授、博士生导师。兼任中国微生物学会副理事长，全军医学科学技术委员会常务委员、全军微生物学专业委员会主任委员，中华医学会病毒学分会副主委，中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会副主委、中国微生物学会人兽共患病原学专业委员会副主委、中华医学会微生物学与免疫学分会常务委员，《中国病毒学杂志》副主编、《医学参考报》微生物学与免疫学频道副主编。

从事教学、科研工作至今35年。主持完成国家科技重大专项课题3项，国家"973"课题1项，国家"863"课题5项，国家自然科学基金课题6项，是军队"十二五"科技重大专项首席科学家。主编专著和国家规划教材4部；发表科研论文280余篇；获国家科技进步二等奖、三等奖和陕西省科技成果一等奖各1项，军队科技进步二等奖6项，国家发明专利授权4项；培养研究生68名，其中博士生35名。先后获得"全国中青年医学科技之星"、"中国人民解放军院校育才奖(金奖)"、总后"科技银星"、"中国科协抗震救灾先进个人"、"总后抗震救灾先进个人"等荣誉称号。

副主编简介



黄　敏

男，教授，1955年8月出生于辽宁省大连市。现任大连医科大学副校长、博士生导师。曾担任国家自然科学基金评委，全国医学高职高专规划教材编审委员会主任委员，《中华实用医药杂志》常务编委，《国外医学》免疫分册常务编委，《中华医学研究杂志》常务编委，中华医学会医学病毒学分会委员，辽宁省微生物学与免疫学分会副主任委员。

从事教学和科研工作31年，近年主持各类科研基金10项，其中国家自然科学基金2项，省市自然科学基金8项。在国内外杂志发表论文70多篇，先后获辽宁省政府科技进步三等奖2项，辽宁省教委科技进步三等奖等3项。



郭晓奎

男，1964年9月生于内蒙古赤峰市。现任上海交通大学基础医学院副院长，医学科学研究院研究组组长（PI），医学院病原生物学教研室主任/临床微生物学教研室主任。兼任中华预防医学会微生态学分会副主任委员，中国微生物学会教育与普及委员会副主任委员，上海市微生物学会副理事长。

从事教学工作至今26年。获得省市级以上科技进步奖8项，教学成果奖3项，发表国际学术论文70余篇。先后被评为国家级教学名师，全国教育科研先进工作者，全国优秀教师，教育部宝钢教育基金会优秀教师，教育部霍英东基金会优秀青年教师以及上海市优秀学科带头人等。

前　言

2012 年 2 月，全国高等医药教材建设研究会和人民卫生出版社在北京召开了以“5+3”为主体的临床医学教育综合改革暨教材建设工作会议，启动了全国高等学校第八轮五年制本科临床医学专业规划教材的全面修订工作。本着全面落实“5+3”临床医学教改方案，适应医疗卫生体制改革的要求，在遵循五年制临床医学专业培养目标的同时，注意与医师规范化培训和国家执业医师考试相衔接，适应研究生入学考试的需求。

根据北京会议精神，以及兄弟院校使用《医学微生物学》第 7 版后的意见和教学体会，我们对第 8 版教材的内容、编排等方面进行了认真讨论和修订，本着不断更新与完善的宗旨，对第 7 版教材作了部分整合与精选，补充了近年发展较快且成熟的新成就，对消毒灭菌与病原微生物实验室生物安全，进行了拆分，将消毒灭菌相关内容调整到细菌的生理部分；将病原微生物实验室生物安全内容作为附录放在全书最后；增加近年出现的传统病原微生物重大疫情（新肠道病毒 EV71）、新发传染病及新近确立的新病原体（新型布尼亚病毒）；鉴于 GBV 和 TTV 与病毒性肝炎病因学关系不确定而单独成节；更新和修订了部分概念和知识点，如疫苗的分类名称、朊蛋白的致病性和埃博拉病毒等内容。

本书沿用了上一版的基本框架，以绪论、细菌学篇、病毒学篇、真菌学篇及附录的顺序进行编排。兼顾知识的基础性与先进性，在深度和难度的总体把握上略高于第 7 版教材整体水平。重要概念、原理及重点内容仍以黑体字加粗显示，非基础知识及研究进展等拓展知识还以小字编排。本教材还配备习题集和网络增值服务。

本版《医学微生物学》修订的顺利完成是全国医学院校交流与合作的结晶，得到了人民卫生出版社的积极支持，编写队伍老中青结合，覆盖面广，同时也得到了微生物学界前辈们的热心指导和帮助，在此，一并致以衷心的感谢。

由于编者水平有限和医学微生物学的发展日新月异，书中难免存在疏漏和错误，恳请广大师生与读者批评指正。但愿本教材可作为学习者开启医学微生物学的一把钥匙，不断获得新的启迪，开启新的领域。

李　凡　徐志凯

2013 年 2 月

目录

绪 论

第一节 微生物和病原微生物

微生物(microorganism)是存在于自然界的一大群体形微小、结构简单、肉眼直接看不见,必须借助光学显微镜或电子显微镜放大数百倍、数千倍,甚至数万倍才能观察到的微小生物。

一、微生物的种类与分布

微生物的种类繁多,在数十万种以上。按其大小、结构、组成等可分为三大类。

1. **非细胞型微生物** 是最小的一类微生物。无典型的细胞结构,无产生能量的酶系统,只能在活细胞内生长增殖。核酸类型为 DNA 或 RNA,两者不同时存在。**病毒属于此类微生物。**

2. **原核细胞型微生物** 这类微生物的原始核呈环状裸 DNA 团块结构,无核膜、核仁。细胞器很不完善,只有核糖体。DNA 和 RNA 同时存在。依据 16S rDNA 序列分析,这类微生物可分为**古生菌**(archaea)和**细菌**(bacterium)两大类。古生菌有自身的 16S rRNA 序列特征,不合成细菌细胞壁中存在的肽聚糖,具有独特的代谢方式,可在极端环境下生存,如产甲烷菌(methanogen)、极端嗜盐菌(extreme halophile)和嗜热嗜酸菌(thermoacidophile)等。目前尚未发现具有肯定致病性的古生菌。细菌的种类繁多,包括**细菌**、**支原体**、**衣原体**、**立克次体**、**螺旋体**和**放线菌**等。后五类的结构和组成与细菌接近,故从分类学观点,将它们列入广义的细菌范畴。

3. **真核细胞型微生物** 细胞核分化程度高,有核膜和核仁。细胞器完整。**真菌属于此类微生物。**

微生物在自然界的分布极为广泛。江河、湖泊、海洋、土壤、矿层、空气等都有数量不等、种类不一的微生物存在,其中以土壤中的微生物最多,例如 1g 肥沃土壤可有几亿到几十亿个。在人类、动物和植物的体表,以及与外界相通的人类和动物的呼吸道、消化道等腔道中,亦有大量的微生物存在。

微生物除体积微小、结构简单、种类繁多外,还有繁殖快、易变异、分布广等特点。

二、微生物与人类的关系

绝大多数微生物对人类和动、植物是有益的,而且有些是必需的。只有少数微生物引起人类和动、植物的病害。

自然界中 N、C、S 等元素的循环要靠有关微生物的代谢活动来进行。例如土壤中的微生物能将死亡动、植物的有机氮化合物转化为无机氮化合物,以供植物生长的需要,而植物又为人类和动物所食用。空气中大量的游离氮,也只有依靠固氮菌等作用后才能被植物吸收。又如植物通过光合作用把空气中的 CO_2 和 H_2O 变成复杂的有机物,特别是形成了大量的人和动物不能分解利用的纤维素和木素。如果没有细菌等微生物转化纤维素、木素为碳的巨大力量以及时补充空气中消耗掉的 CO_2,只需 50~60 年,空气中的 CO_2 将无法维持生物界旺盛发展的需要。据估计,由微生物降解有机物向自然界提供的碳每年高达 950 亿吨。因此,没有微生物,物质就不能运转和循环,植物就不能进行代谢,人类和动物也将难以生存。

在农业方面,微生物可以用来发展微生物饲料、微生物肥料、微生物农药、微生物食品、微生

笔记

物能源和微生物环保制剂等。如我国使用的4320菌体蛋白饲料，含根瘤菌的微生物肥料，由江西井冈山地区一株链霉菌开发的农药井冈霉素，食用菌微生物食品，以沼气为纽带的微生物能源以及在许多国家和地区都已广泛应用的养猪业环境清洁剂——木糠床微生态菌剂等。

在工业方面，微生物应用于食品、制药、皮革、纺织、石油、化工、冶金、采矿、创新能源等领域日趋广泛。通过微生物发酵途径生产抗生素、维生素C、有机酸、氨基酸、多元醇、多肽等；冶金上用微生物浸矿来提炼金属，曾有人统计过，国际上每年用细菌溶浸获得的铜产量达32万吨，占整个采铜量的20%；在石油工业中，利用微生物进行石油勘探、开采、加工和处理石油污染的土壤、海洋等都有很好的发展前景。

在环境保护方面，微生物能够降解塑料、甲苯等有机物，处理污水废气。如污水处理方面，微生物在新陈代谢过程中产生的CO_2能中和废水中的碱；微生物在污水中生活时的氧化还原和分解作用，能使废水中的有毒物质，如有机磷、氰化物、汞等降解转化为无毒物质。

在生命科学中，微生物被作为研究对象或模式生物，有关基因、遗传密码、转录、翻译和基因调控等都是在微生物中发现和得到证实的。近年来，随着分子生物学的发展，微生物在基因工程技术中的作用更显重要，不仅提供了必不可少的多种工具酶和载体系统，更可人为地定向创建有益的工程菌新品种，能在无污染的自然环境中制造出多种多样的人类必需品。

正常情况下，寄生在人类和动物口、鼻、咽部和消化道中的微生物是无害的，有的还能拮抗病原微生物的入侵。定植在肠道中的大肠埃希菌等还能向宿主提供必需的维生素B_1、维生素B_2、烟酸、维生素B_{12}、维生素K和多种氨基酸等营养物质。又如牛、羊等反刍动物，因有分解纤维素的微生物在胃中定植，才能利用草料作为营养物质。

少数微生物具有致病性，能引起人类和动物、植物的病害，这些微生物称为**病原微生物**。它们可引起人类的伤寒、痢疾、结核、破伤风、麻疹、脊髓灰质炎、肝炎、艾滋病等；引起禽、兽的鸡霍乱、禽流感、牛炭疽、猪气喘等；以及引起农作物的水稻白叶枯病、小麦赤霉病、大豆病毒病等。有些微生物，在正常情况下不致病，只是在特定情况下导致疾病，这类微生物称为**机会致病性微生物**。例如一般大肠埃希菌在肠道不致病，在泌尿道或腹腔中就引起感染。此外，有些微生物的破坏性还表现在使工业产品、农副产品和生活用品发生腐蚀和霉烂等。

第二节 微生物学和医学微生物学

微生物学(microbiology)是生命科学的一门重要学科，主要研究微生物的种类、分布、形态、结构、代谢、生长繁殖、遗传和变异及其与人类、动物、植物、自然界的相互关系。

现代微生物学根据研究的侧重面和层次不同已形成许多分支。着重研究微生物学基本问题的有微生物分类学、微生物生理学、微生物生态学、微生物遗传学、微生物基因组学、细胞微生物学等。按研究对象可分为细菌学、病毒学、真菌学等。按研究和应用领域可分为医学微生物学、兽医微生物学、食品微生物学、农业微生物学、工业微生物学等。这些分支学科的相互配合和促进，使整个微生物学不断地、全面地向纵深发展。

医学微生物学(medical microbiology)主要研究与医学有关的病原微生物的生物学特性、致病机制、机体的抗感染免疫、特异性检测方法以及相关感染性疾病的防治措施等，以控制和消灭感染性疾病，达到保障和提高人类健康水平的目的。

医学微生物学是基础医学中的一门重要学科，可为学习临床各科的感染性疾病、传染病、超敏反应性疾病和肿瘤等奠定重要的理论基础。根据医学微生物学的系统性和教学上的循序渐进原则，本课程分为细菌学、病毒学和真菌学三篇，每篇内容包括总论和各论两个部分，分别叙述原核细胞型微生物、非细胞型微生物和真核细胞型微生物的形态结构、生长繁殖、遗传变异等生物学特性，病原微生物的致病性和免疫性以及微生物学检查法和防治原则。

笔记

第三节 医学微生物学发展简史

医学微生物学是人类在探讨传染性疾病的病因、流行规律以及防治措施的过程中伴随微生物学的发展而发展的，并且为促进微生物学的发展作出过巨大贡献。医学微生物学发展过程大致可分三个时期。

一、微生物学的经验时期

古代人类虽未观察到具体的微生物，但早已将微生物知识用于工农业生产和疾病防治之中。公元前两千多年的夏禹时代，就有仪狄作酒的记载。春秋战国时期，已经知道利用微生物分解有机物质的作用进行沤粪积肥。北魏（386—534）贾思勰《齐民要术》一书中，详细记载了制醋方法。那时也已知道用豆类发酵制酱。

北宋末年（11 世纪）刘真人就有肺痨由虫引起之说。意大利 Fracastoro（1483—1553）认为传染病的传播有直接、间接和通过空气等数种途径。奥地利 Plenciz（1705—1786）主张传染病的病因是活的物体，每种传染病由独特的活物体所引起。18 世纪清乾隆年间，我国师道南在《天愚集》鼠死行篇中写道："东死鼠，西死鼠，人见死鼠如见虎，鼠死不几日，人死如圻堵。昼死人，莫问数，日色惨淡愁云护。三人行未十步多，忽死两人横截路……"生动地描述了当时鼠疫猖獗流行的可怕凄惨景况，同时也正确地指出了鼠疫的流行环节。

在预防医学方面，我国自古以来就有将水煮沸后饮用的习惯。明李时珍《本草纲目》中指出，患者的衣服蒸过后再穿就不会感染到疾病，表明已有消毒的记载。

古代人早已认识到天花是一种烈性传染病，一旦与患者接触，几乎都将受染，且病死率极高，但已康复者去护理天花患者，则不会再得天花。这种免得瘟疫的现象，是"免疫"一词的最早概念。我国先民在这个现象的启发下，开创了预防天花的人痘接种法。大量古书表明，我国在明隆庆年间（1567—1572），人痘已经广泛使用，并先后传至俄国、朝鲜、日本、土耳其、英国等国家。

二、实验微生物学时期

（一）微生物的发现

首先观察到微生物的是荷兰人列文虎克（Antony van Leeuwenhoek，1632—1723）。他于 1676 年用自磨镜片，创制了一架能放大 266 倍的原始显微镜，并用其观察牙垢、雨水、井水和植物浸液，发现其中有许多运动着的"微小动物"，并用文字和图画科学地记载了人类最早看见的"微小动物"——细菌的不同形态（球状、杆状和螺旋状等），为证明微生物的存在提供了科学依据。

19 世纪 60 年代，酿酒和蚕丝工业在欧洲一些国家占有重要的经济地位，酒味的变酸和蚕病流行促进了对微生物的研究。法国科学家**巴斯德**（Louis Pasteur，1822—1895）首先用实验证明有机物质的发酵和腐败是由微生物引起的，而酒类变质是因污染了杂菌所致，从而推翻了当时盛行的"自然发生说"。巴斯德的研究，开始了微生物的生理学时代。人们认识到不同微生物间不仅有形态学上的差异，在生理学特性方面亦有所不同，进一步肯定了微生物在自然界中所起的重要作用。自此，微生物学成为一门独立学科。

巴斯德为防止酒类发酵成醋，创用了加温处理法，这就是至今仍沿用于酒类和牛奶的**巴氏消毒法**。在巴斯德的影响下，英国外科医生李斯特（Joseph Lister，1827—1912）创用苯酚喷洒手术室和煮沸手术用具，以防止术后感染，为防腐、消毒，以及无菌操作奠定了基础。

微生物学的另一奠基人是德国学者**郭霍**（Robert Koch，1843—1910）。他创用了琼脂固体培养基，使从环境或患者排泄物等标本中分离细菌并纯培养成为可能，利于对各种细菌特性的研

笔记

究。他还创用了染色方法和实验动物感染，为发现传染病的病原菌提供了实验手段。他根据对炭疽芽胞杆菌的研究，提出了著名的**郭霍法则**（Koch's postulates，1884）：①特殊的病原菌应在同一种疾病中查见，在健康人中不存在；②该特殊病原菌能被分离培养得到纯种；③该纯培养物接种至易感动物，能产生同样病症；④自人工感染的实验动物体内能重新分离得到该病原菌纯培养。郭霍法则为发现多种传染病的病原菌提供了理论指导。在19世纪的最后20年中，许多传染病的病原菌被郭霍和在他带动下的一大批学者相继发现并分离培养成功，如炭疽芽胞杆菌、伤寒沙门菌、结核分枝杆菌、霍乱弧菌、白喉棒状杆菌、葡萄球菌、破伤风梭菌、脑膜炎奈瑟菌、鼠疫耶尔森菌、肉毒梭菌、痢疾志贺菌等。

但在运用郭霍法则时也应注意一些特殊情况，如有些人表面看似很健康，实则是带菌者；有些病原体还不能人工培养，如麻风分枝杆菌；也有的病原体尚未发现有易感动物等。另一方面，一些病原体的确定尚可通过免疫学方法检测患者血清中的特异性抗体，以及通过分子生物学技术鉴定靶组织中的特异基因等。基于上述原因，Fredericks 于1996年提出了包含核苷酸序列检测的郭霍法则修正案。

1892年，俄国植物生理学家伊凡诺夫斯基（ИвановскийДИ）发现了烟草花叶病病原体是比细菌还小的、能通过细菌过滤器的、光学显微镜不能窥测的生物，称之为**滤过性病毒**。这是人类发现的第一种病毒，即烟草花叶病病毒。1897年德国细菌学家勒夫勒（Loeffler）和弗施（Frosch）发现第一种动物病毒——口蹄疫病毒。1901年，对人致病的第一种病毒——黄热病病毒首先由美国细菌学家里德（Reed）领导的黄热病委员会证实。细菌病毒（噬菌体）则分别由特沃特（Twort，1915）和埃雷尔（d'Herelle，1917）发现。随后相继分离出许多人类和动物、植物致病性病毒。

（二）免疫学的兴起

18世纪末，英国琴纳（Edward Jenner，1749—1823）创用牛痘预防天花，为预防医学开辟了广阔途径。随后，巴斯德成功研制出鸡霍乱、炭疽和狂犬病疫苗。

德国科学家贝林格（Behring）在1891年用含白喉抗毒素的动物免疫血清成功地治愈一名白喉患儿，此为第一个被动免疫治疗的病例。自此促使科学家们从血清中寻找杀菌、抗毒物质，导致血清学的发展。

人们对感染免疫现象本质的认识始于19世纪末。当时有两种不同的学术观点，一派以俄国梅契尼可夫（Мечников ИИ，1845—1916）为首的吞噬细胞学说，另一派以德国艾利希（Paul Ehrlich，1854—1915）为代表的体液抗体学说。两派长期争论不休。不久，Wright 在血清中发现了调理素抗体，并证明吞噬细胞的作用在体液抗体的参与下可大为增强，两种免疫因素是相辅相成的，从而统一了两学说间的矛盾，使人们对免疫机制的认识有了一个较全面的观点。

澳大利亚学者 Burnet 以生物学和分子遗传学的发展为基础，于1958年提出了关于抗体生成的克隆选择学说，不仅阐明了抗体产生机制，同时也可对抗原的识别、免疫记忆形成、自身耐受建立和自身免疫发生等重要免疫生物学现象做出解释。这样，免疫学跨越了感染免疫的范畴，逐渐形成生物医学中的一门新学科。

（三）化学治疗剂和抗生素的发明

首先合成化学治疗剂的是艾利希。他在1910年合成治疗梅毒的砷凡纳明（编号606），后又合成新砷凡纳明（编号914），开创了感染性疾病的化学治疗时代。1935年 Domagk 发现百浪多息（prontosil）可以治疗致病性球菌感染后，一系列磺胺药物相继合成，广泛应用于感染性疾病的治疗中。

1929年弗莱明（Fleming）发现青霉菌产生的青霉素能抑制金黄色葡萄球菌的生长。直到1940年，Florey 等将青霉菌的培养液予以提纯，才获得可供临床使用的青霉素纯品。1949年，瓦克斯曼（Waksman）在他多年研究土壤微生物所积累资料的基础上，发现了链霉素。随后，氯霉素、金霉素、土霉素、红霉素等相继发现，使许多由细菌引起的感染性疾病和传染病得到控制和

笔记

治愈，为人类健康作出了巨大贡献。

三、现代微生物学时期

近40年以来，随着化学、物理学、生物化学与分子生物学、遗传学、细胞生物学、免疫学等学科的发展，电子显微镜技术、各种标记技术、分子生物学技术、色谱分析、电子计算机等新技术的建立和改进，使医学微生物学得到了迅速的发展。

（一）不断发现新的病原微生物

自1973年以来，**新发现的病原微生物**已有30多种。其中主要的有军团菌，幽门螺杆菌，空肠弯曲菌，霍乱弧菌O139血清群，大肠埃希菌O157 ：H7血清型，肺炎衣原体，伯道疏螺旋体，人类免疫缺陷病毒，人疱疹病毒6、7、8型，丙、丁、戊型肝炎病毒，汉坦病毒，轮状病毒，西尼罗病毒，尼派病毒和SARS冠状病毒等。

1967—1971年间，美国植物学家Diener等从马铃薯纺锤形块茎病中发现一种不具有蛋白质组分的RNA致病因子，称为**类病毒**（viroid）。后来在研究类病毒时发现另一种引起苜蓿等植物病害的**卫星病毒**（satellite virus）。1983年国际病毒命名委员会将这些微生物统称为**亚病毒**（subvirus）。

1982年，美国科学家Prusiner从感染羊瘙痒病（scrapie）的鼠脑分离出一种称为**朊粒**（prion）的传染性蛋白因子。该因子只含蛋白质，无核酸组分，引起海绵状脑病，是一种慢性进行性致死性中枢神经系统疾病。朊粒所致疾病，动物中除羊瘙痒病外，还有牛海绵状脑病（俗称疯牛病）、貂传染性脑炎等；人类中有库鲁病（Kuru disease）、克－雅病（Creutzfeldt–Jakob disease，CJD）、格斯特曼综合征（Gerstmann syndrome）、致死性家族失眠症（fatal familial insomnia，FFI）等。

（二）微生物基因组研究取得重要进展

1990年，人巨细胞病毒全基因组测序完成；1995年，流感嗜血杆菌全基因组DNA测序完成。截至目前，已发现的病毒基本上都完成了基因测序；有150多种细菌完成测序，有180余种完成但尚未提交或正在测序。病原微生物基因组序列测定的重大意义，除能更好地了解其结构与功能、致病机制及其与宿主的相互关系外，还能发现更特异的分子靶标作为诊断、分型等的依据，为临床筛选有效药物和开发疫苗等提供参考。

（三）微生物学研究和诊断技术不断进步

传统的细菌鉴定和分类方法是以细菌表型为主，现在则侧重于基因型方法来分析细菌的遗传学特征。基因型方法包括DNA的G+C mol%测定、DNA杂交、16S rRNA寡核苷酸序列分析、氨基酸序列分析、质粒指纹图分析、基因转移和重组、基因探针、聚合酶链反应（PCR）、限制性片段长度多态性（RFLP）分析等。这些分子生物学技术在病原微生物的分类、新种鉴定和流行病学研究中尤为重要。

临床微生物学检验中，传统的细菌生化反应鉴别方法已逐步被自动化检测仪器或试剂盒所取代；免疫荧光技术、酶联免疫技术、PCR技术等免疫学和分子生物学技术已被广泛应用。

（四）疫苗研制不断取得突破

随着人们对病原微生物基因和蛋白的结构与功能的认识不断深入，以及微生物学、免疫学、分子生物学等理论和实验技术的不断发展，新型疫苗的研制开发工作进展很快。一些新的或是改进的病原微生物疫苗研制成功；疫苗的类型从最初的灭活疫苗，经历了减毒活疫苗、亚单位疫苗、基因工程疫苗以及核酸疫苗（DNA疫苗）等发展阶段；多联疫苗、黏膜疫苗、缓释疫苗等新型疫苗以及新的疫苗佐剂不断被开发出来。

在医学微生物学及其相关的学科发展中，全球有近60位科学家因有突出贡献而荣获诺贝尔奖，可见医学微生物学在生命科学中的重要地位。我国学者也为此作出了重大贡献：在20世纪30年代，黄祯祥发现并首创了病毒体外细胞培养技术，为现代病毒学奠定了基础；1955年，汤

笔记

飞凡首次分离出沙眼衣原体(当时尚称作沙眼病毒——“汤氏病毒”);朱既明首次将流感病毒裂解为亚单位,提出了流感病毒结构图像,为以后研究亚单位疫苗提供了原理和方法。在医学微生物学的应用研究方面,我国在主要传染病疫苗的研制和计划免疫方面取得了很大成就,相继成功地制备了脊髓灰质炎疫苗、麻疹疫苗、甲型肝炎疫苗、基因工程乙型肝炎疫苗、乙型脑炎疫苗等;我国较早地消灭了天花和野毒株引起的脊髓灰质炎,有效地控制了鼠疫、霍乱等烈性传染病,麻疹、白喉、破伤风、流行性脑膜炎等传染病的危害不再严重,肾综合征出血热、流行性乙型脑炎、乙型肝炎等的发病率也大幅度降低。

医学微生物学发展史带给我们的启示

回顾医学微生物学发展的历史,可以得到以下启示:

1. 人类在认识自然和与自然共处中遇到的问题是学科发展的源泉和动力。

2. 在解决实际问题的过程中将会引发一些涉及基础理论的问题,通过研究创立新的基础理论是学科飞跃发展的基石。

3. 技术方法的改革与创新是推动学科发展的一个重要方面,科学和技术的密切相关性决定了两者均不可偏废。

4. 科技工作者的献身精神、敏锐观察力、持之以恒的工作态度以及主动加强与相关学科的联系与合作是取得成功的关键。

展望

人类在医学微生物学和传染病防控领域已取得巨大成就,但距离控制和消灭传染病的目标还有很长的一段路要走。由病原微生物引起的**感染性疾病特别是多种传染病仍是对人类健康威胁最大、最重要的一类疾病**。据世界卫生组织报告,目前传染病的发病率和病死率在所有疾病中仍居第一位。**新现**(emerging)**和再现**(re-emerging)**病原微生物**的感染不断发生;迄今仍有一些感染性疾病的病原体还未发现;某些病原微生物的致病和免疫机制还有待阐明;不少感染性疾病尚缺乏有效的防治措施,病毒性疾病尚缺乏有效的药物治疗;大量的广谱抗生素的滥用造成了强大的选择压力,使许多菌株发生变异,导致耐药性的产生;某些微生物快速变异给疫苗设计和治疗造成很大障碍。

在未来一段时间内,医学微生物学的主要研究领域应包括以下几个方面:

1. **新现和再现病原微生物的研究** 新现的传染病或是由新病原微生物引起(例如艾滋病、某些出血热、某些肝炎、SARS、发热伴血小板减少综合征等),或是由动物传染给人而发生(如高致病性禽流感、2 型猪链球菌感染等);而再出现的传染病(如结核病、霍乱、登革热、鼠疫等)多由病原体变异或多重耐药,以及环境改变等引起。另外,新现和再现病原微生物引起的传染病常会形成突发公共卫生事件,引发严重的公共卫生问题甚至社会问题,必须高度重视和防范。新现与再现病原微生物的病原学、致病性、耐药机制及其特异性防治方法是研究的主要方向。

2. **病原微生物致病机制的研究** 对病原微生物致病机制的研究不仅具有重要的理论意义,而且有助于更有效地防控和治疗感染性疾病。应充分利用微生物基因组学和蛋白质组学的研究成果,进一步揭示病原微生物的致病基因、变异规律、致病物质及可能的致病机制。病原微生物与宿主细胞之间复杂的相互作用是感染性疾病发生的基础,应进一步深入研究这种相互作用所涉及的基因与蛋白质分子、信号传导途径、调控作用及其可能的机制等,为感染性疾病的诊断、预防和治疗等提供新的理论基础。

3. **建立规范化的微生物学诊断方法及技术** 目前传统的细菌生化反应方法已被自动化检测仪器或试剂盒取代,一些免疫学检测技术和分子生物学检测技术已被广泛采用。但是,一方面新现或再现病原微生物增多,需要不断建立新的检测、鉴定方法;另一方面对现有的检测方法也需不断改进,进一步提高其特异性和敏感性,并重视各种检测试剂和检测方法的标准化。

笔记

4. **抗感染免疫的基础理论及其应用的研究** 疫苗是控制传染病发生和流行的最主要武器

之一。目前能够有效预防病原微生物感染的疫苗种类还不够多，亟须研制开发更多、更有效的疫苗。抗感染免疫基础理论的研究不仅能够进一步阐明机体对病原微生物的固有免疫应答和适应性免疫应答，而且有关病原微生物的抗原结构及其表位、抗原递呈的机制、免疫应答的规律及其调控等研究还可为疫苗的研发奠定坚实的理论和物质基础。

5. 抗感染药物的研制与开发　新的抗微生物药物除了继续重点研发化学治疗剂和抗生素这两大类以外，天然药物（包括中草药、微生物的次级代谢产物、海洋生物中的活性物质等）和生物制剂（包括单克隆抗体、细胞因子等）也是未来发展的两个重要方向。

（徐志凯　李　凡）

笔记

第一篇　细　菌　学

第一章　细菌的形态与结构

细菌(bacterium)是属**原核生物界**(prokaryotae)的一种**单细胞**微生物,有广义和狭义两种范畴。广义上泛指各类原核细胞型微生物,包括细菌、放线菌、支原体、衣原体、立克次体、螺旋体。狭义上则专指其中数量最大、种类最多、具有典型代表性的细菌,是本章讨论的对象。它们形体微小,结构简单,具有细胞壁和原始核质,无核仁和核膜,除核糖体外无其他细胞器。

了解细菌的形态和结构对研究细菌的生理活动、致病性和免疫性,鉴别细菌以及细菌性感染的诊断和防治等均有重要的理论和实际意义。

第一节　细菌的大小与形态

观察细菌最常用的仪器是光学显微镜,其大小可以用测微尺在显微镜下进行测量,一般以**微米**(μm)为单位。在营养丰富的人工培养条件下,细菌呈浮游(planktonic)状态,按其外形区分主要有**球菌**、**杆菌**和**螺形菌**三大类(图 1-1)。在自然界及人和动物体内,绝大多数细菌黏附在无生命或有生命的物体表面,以**生物被膜**(biofilm)的形式存在。

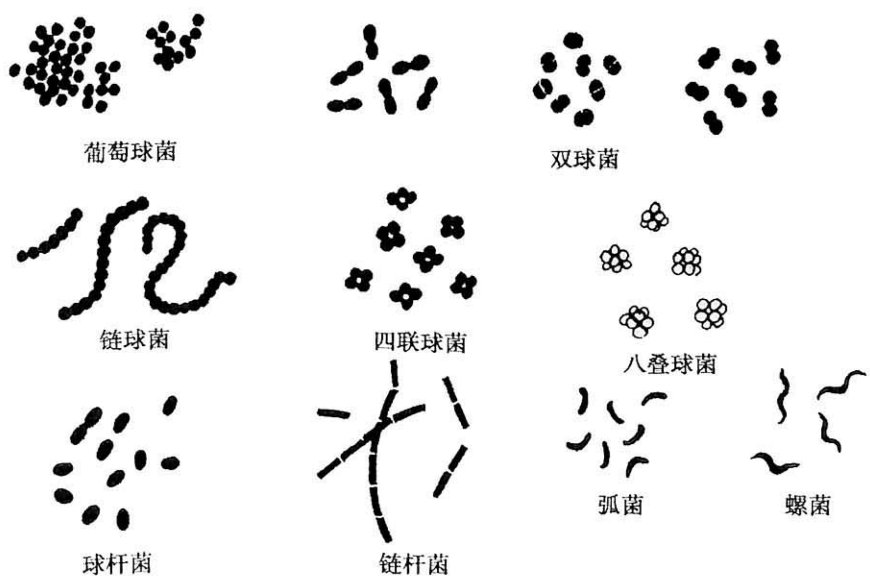


图 1-1　细菌的基本形态

(一) 球菌

多数球菌(coccus)直径在 1μm 左右,外观呈圆球形或近似球形。由于繁殖时细菌**分裂平面**不同和分裂后菌体之间相互**黏附程度**不一,可形成不同的排列方式,这对一些球菌的鉴别具

笔记

有意义。

1. 双球菌(diplococcus) 在一个平面上分裂,分裂后两个菌体成对排列,如脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌。

2. 链球菌(streptococcus) 在一个平面上分裂,分裂后多个菌体连接成链状,如乙型溶血性链球菌。

3. 葡萄球菌(staphylococcus) 在多个不规则的平面上分裂,分裂后菌体无一定规则地排列在一起似葡萄状,如金黄色葡萄球菌。

4. 四联球菌(tetrad) 在两个互相垂直的平面上分裂,分裂后四个菌体黏附在一起呈正方形,如四联加夫基菌。

5. 八叠球菌(sarcina) 在三个互相垂直的平面上分裂,分裂后八个菌体排列成包裹状立方体,如藤黄八叠球菌。

各类球菌在标本或培养物中除上述的典型排列方式外,还可有分散的单个菌体存在。

(二) 杆菌

不同**杆菌**(bacillus)的大小、长短、粗细差别较大。大的杆菌如炭疽芽胞杆菌长 3~10μm,中等的如大肠埃希菌长 2~3μm,小的如布鲁氏菌长仅 0.6~1.5μm。

杆菌形态多数呈直杆状,也有的菌体稍弯;多数呈分散存在,也有的呈链状排列,称为**链杆菌**(streptobacillus);菌体两端大多呈钝圆形,少数两端平齐(如炭疽芽胞杆菌)或两端尖细(如梭杆菌)。有的杆菌末端膨大成棒状,称为**棒状杆菌**(corynebacterium);有的菌体短小,近于椭圆形,称为**球杆菌**(coccobacillus);有的常呈分支生长趋势,称为**分枝杆菌**(mycobacterium);有的末端常呈分叉状,称为**双歧杆菌**(bifidobacterium)。

(三) 螺形菌

螺形菌(spiral bacterium)菌体弯曲,有的菌体长 2~3μm,只有一个弯曲,呈弧形或逗点状称为**弧菌**(vibrio),如霍乱弧菌;有的菌体长 3~6μm,有数个弯曲称为**螺菌**(spirillum),如鼠咬热螺菌;也有的菌体细长弯曲呈弧形或螺旋形,称为**螺杆菌**(helicobacterium),如幽门螺杆菌。

细菌的形态受温度、pH、培养基成分和培养时间等环境因素影响很大。一般是细菌在适宜的生长条件下培养 8~18 小时时形态比较典型,在不利环境或菌龄老时常出现梨形、气球状和丝状等不规则的**多形性**(polymorphism),称为衰退型(involution form)。因此,**观察细菌的大小和形态,应选择适宜生长条件下的对数生长期为宜。**

第二节 细菌的结构

细菌具有典型的原核细胞的结构(图 1-2)和功能。其中**细胞壁**、**细胞膜**、**细胞质**和**核质**等是每个细菌细胞都具有的,故称为细菌的**基本结构**;**荚膜**、**鞭毛**、**菌毛**、**芽胞**仅某些细菌具有,为其**特殊结构**。

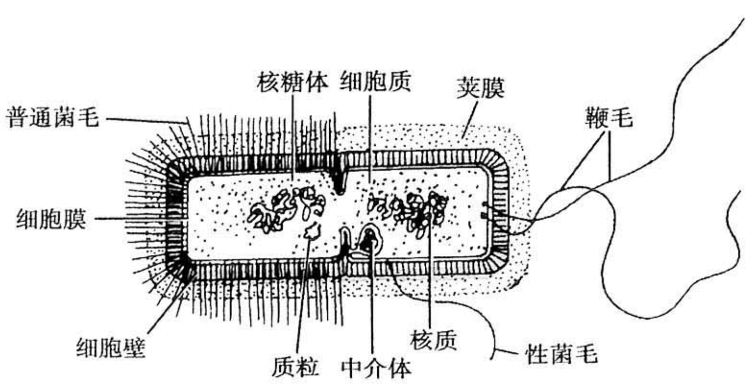


图 1-2 细菌细胞结构模式图

一、细菌的基本结构

（一）细胞壁

细胞壁（cell wall）位于菌细胞的最外层，包绕在细胞膜的周围。是一种膜状结构，组成较复杂，随不同细菌而异。用**革兰染色法**可将细菌分为两大类，即**革兰阳性（G^+）菌**和**革兰阴性（G^-）菌**。两类细菌细胞壁的共有组分为**肽聚糖**，但分别拥有各自的特殊组分。

1. **肽聚糖**（peptidoglycan）　**肽聚糖**是一类复杂的多聚体，是细菌细胞壁中的主要组分，**为原核细胞所特有**，又称为**粘肽**（mucopeptide）或**胞壁质**（murein）。G^+ 菌的肽聚糖由**聚糖骨架**（backbone）、**四肽侧链**（tetrapeptide side）和**五肽交联桥**（peptide cross-bridge）三部分组成（图 1-3），G^- 菌的肽聚糖仅由**聚糖骨架**和**四肽侧链**两部分组成（图 1-4）。

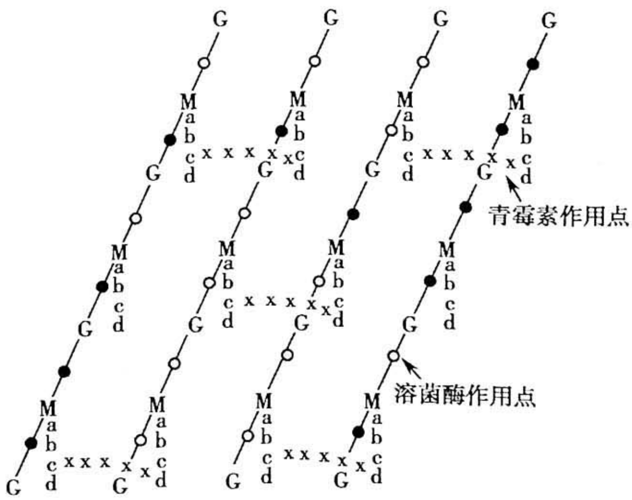


图 1-3　金黄色葡萄球菌细胞壁的肽聚糖结构

M：N- 乙酰胞壁酸；G：N- 乙酰葡糖胺；O：β -1，4 糖苷键；a：L- 丙氨酸；b：D- 谷氨酸；c：L- 赖氨酸；d：D- 丙氨酸；x：甘氨酸

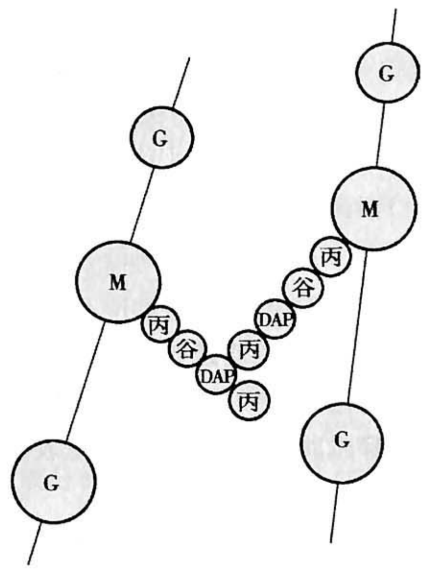


图 1-4　大肠埃希菌细胞壁的肽聚糖结构

聚糖骨架由 **N- 乙酰葡糖胺**（N-acetyl glucosamine）和 **N- 乙酰胞壁酸**（N-acetylmuramic acid）交替间隔排列，经 **β -1，4 糖苷键**联结而成。各种细菌细胞壁的聚糖骨架均相同。

四肽侧链的组成和联结方式随细菌种类不同而异。如葡萄球菌（G^+ 菌）细胞壁的四肽侧链的氨基酸依次为 L- 丙氨酸、D- 谷氨酸、L- 赖氨酸和 D- 丙氨酸；第三位的 L- 赖氨酸通过由五个甘氨酸组成的交联桥连接到相邻聚糖骨架四肽侧链末端的 D- 丙氨酸上，从而构成机械强度十分坚韧的**三维立体结构**。在大肠埃希菌（G^- 菌）的四肽侧链中，第三位氨基酸是二氨基庚二酸（diaminopimelic acid，DAP），并由 DAP 与相邻四肽侧链末端的 D- 丙氨酸直接连接，没有五肽交联桥，因而只形成单层平面网络的**二维结构**。其他细菌的四肽侧链中第三位氨基酸变化最大，大多数 G^- 菌为 DAP，而 G^+ 菌可以是 DAP、L- 赖氨酸或其他 L- 氨基酸。迄今，DAP 仅发现存在于原核细胞的细胞壁中。

2. **革兰阳性菌细胞壁特殊组分**　G^+ 菌的细胞壁较厚（20~80nm），除含有 15~50 层肽聚糖结构外，大多数尚含有大量的**磷壁酸**（teichoic acid），少数是磷壁醛酸（teichuronic acid），约占细胞壁干重的 50%（图 1-5）。

磷壁酸是由核糖醇（ribitol）或甘油残基经磷酸二酯键互相连接而成。其结构中少数基团被氨基酸或糖所取代，多个磷壁酸分子组成长链穿插于肽聚糖层中，这是细菌细胞带负电荷的重

笔记

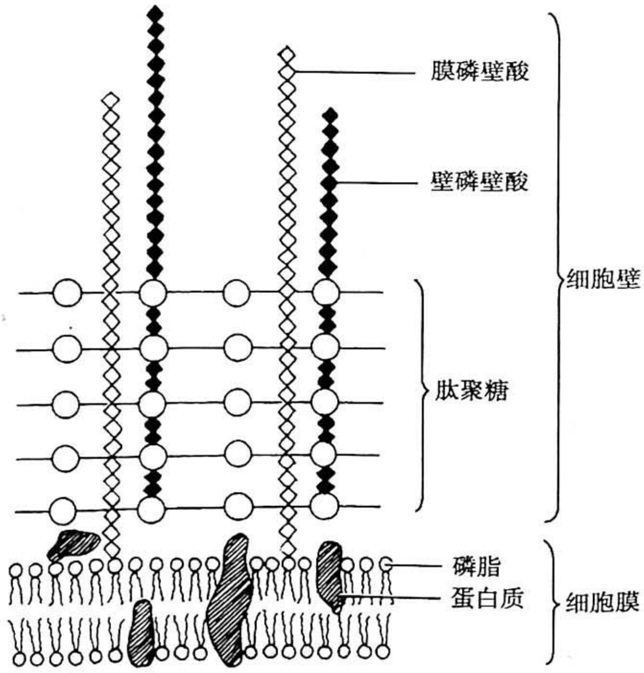


图 1-5 革兰阳性菌细胞壁结构模式图

要原因。磷壁酸按其结合部位不同，分为**壁磷壁酸**(wall teichoic acid，WTA)和**膜磷壁酸**(membrane teichoic acid)或称**脂磷壁酸**(lipoteichoic acid，LTA)两种。前者的一端通过磷脂与肽聚糖上的胞壁酸共价结合，另一端伸出细胞壁游离于外。膜磷壁酸一端与细胞膜外层上的糖脂共价结合，另一端穿越肽聚糖层伸出细胞壁表面呈游离状态。磷壁醛酸与磷壁酸相似，仅其结构中以糖醛酸代替磷酸。

壁磷壁酸与脂磷壁酸共同组成带负电荷的网状多聚物或基质，使得 G^+ 菌的细胞壁具有良好的坚韧性、通透性及静电性能。**磷壁酸也具有抗原性及黏附素活性。**

此外，某些革兰阳性菌细胞壁表面尚有一些特殊的表面蛋白质，如金黄色葡萄球菌的 A 蛋白、A 群链球菌的 M 蛋白等。而大多数革兰阳性菌细胞壁中蛋白质含量较少。

3. 革兰阴性菌细胞壁特殊组分 G^- 菌细胞壁较薄(10~15nm)，但结构较复杂。除含有 1~2 层的肽聚糖结构外，尚有其特殊组分**外膜**(outer membrane)，约占细胞壁干重的 80%(图 1-6)。

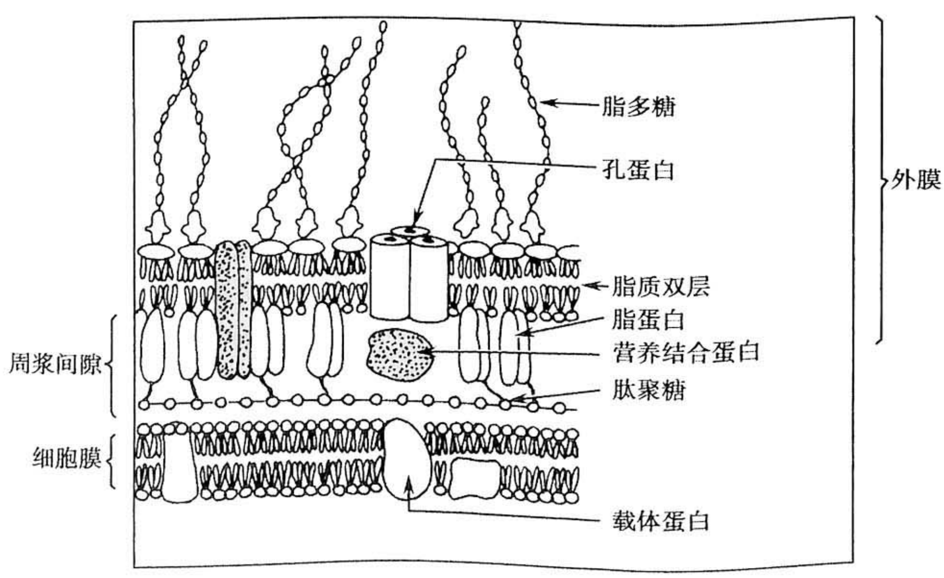


图 1-6 革兰阴性菌细胞壁结构模式图

外膜由**脂蛋白**、**脂质双层**和**脂多糖**三部分组成。脂蛋白位于肽聚糖层和脂质双层之间，其蛋白质部分与肽聚糖侧链的二氨基庚二酸相连，其脂质成分与脂质双层非共价结合，使外膜和肽聚糖层构成一个整体。脂质双层的结构类似细胞膜，双层内镶嵌着多种蛋白质称为**外膜蛋白**(outer membrane protein，OMP)，其中有的为孔蛋白(porin)，如大肠埃希菌的 OmpF、OmpC，允许水溶性分子(分子量≤ 600)通过；有的为诱导性或去阻遏蛋白质，参与特殊物质的扩散过程；有的为噬菌体、性菌毛或细菌素的受体。由脂质双层向细胞外伸出的是**脂多糖**(lipopolysaccharide，LPS)。LPS 由**脂质 A**、**核心多糖**和**特异多糖**三部分组成，即 G^- 菌的**内毒素**(endotoxin)。

(1) 脂质 A(lipid A)：为一种糖磷脂，由 β-1，6 糖苷键相连的 D- 氨基葡萄糖双糖组成的基本骨架，双糖骨架的游离羟基和氨基可携带多种长链脂肪酸和磷酸基团。**不同种属细菌的脂质 A 骨架基本一致**，其主要差别是脂肪酸的种类和磷酸基团的取代不尽相同，其中 β- 羟基豆蔻酸是肠道菌所共有的。**脂质 A 是内毒素的毒性和生物学活性的主要组分，无种属特异性**，故不同细菌产生的内毒素的毒性作用均相似。

(2) 核心多糖(core polysaccharide)：位于脂质 A 的外层，由己糖(葡萄糖、半乳糖等)、庚糖、2-酮基 -3- 脱氧辛酸(2-keto-3-deoxyoctonic acid，KDO)、磷酸乙醇胺等组成。经 KDO 与脂质 A 共价联结。核心多糖有**属特异性**，同一属细菌的核心多糖相同。

(3) 特异多糖(specific polysaccharide)：是脂多糖的最外层，由数个至数十个寡聚糖(3~5 个单糖)重复单位所构成的多糖链。**特异多糖即革兰阴性菌的菌体抗原(O 抗原)**，具有**种特异性**，因其多糖中单糖的种类、位置、排列和空间构型各不相同所致。特异多糖的缺失，细菌从光滑(smooth，S)型变为粗糙(rough，R)型。

此外，少数革兰阴性菌(脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、流感嗜血杆菌)的 LPS 结构不典型，其外膜糖脂含有短链分枝状聚糖组分(与粗糙型肠道菌的 LPS 相似)，称为**脂寡糖**(lipooligosaccharide，LOS)。它与哺乳动物细胞膜的鞘糖脂成分非常相似，从而使这些细菌逃避宿主免疫细胞的识别。LOS 作为重要的毒力因子受到关注。

在 G^- 菌的细胞膜和外膜的脂质双层之间有一空隙，约占细胞体积的 20%~40%，称为**周浆间隙**(periplasmic space)。该间隙含有多种水解酶，例如蛋白酶、核酸酶、碳水化合物降解酶及作为毒力因子的胶原酶、透明质酸酶和 β- 内酰胺酶等，在细菌获得营养、解除有害物质毒性等方面有重要作用。

G^+ 和 G^- 菌细胞壁结构显著不同(表 1-1)，导致这两类细菌在染色性、抗原性、致病性及对药物的敏感性等方面有很大差异。

表 1-1　革兰阳性菌与阴性菌细胞壁结构比较

细胞壁	革兰阳性菌	革兰阴性菌
强度	较坚韧	较疏松
厚度	厚，20~80nm	薄，10~15nm
肽聚糖层数	多，可达 50 层	少，1~2 层
肽聚糖含量	多，占细胞壁干重 50%~80%	少，占细胞壁干重 5%~20%
糖类含量	多，约 45%	少，15%~20%
脂类含量	少，1%~4%	多，11%~22%
磷壁酸	+	−
外膜	−	+

此外，某些细菌(如分枝杆菌)细胞壁含有丰富脂质，这与上述 G^+ 和 G^- 菌细胞壁结构显著不同，因此这类细菌具有特殊的生物学性状和致病特点。

笔记

4. 细胞壁的主要功能及相关的医学意义

(1) 保护细菌和维持菌体形态：细菌细胞壁坚韧而富弹性，其主要功能是维持菌体固有的形态，并保护细菌抵抗低渗环境。细菌细胞质内有高浓度的无机盐和大分子营养物质，其渗透压高达 506.6~2533.1kPa(5~25 个大气压)。由于细胞壁的保护作用，使细菌能承受内部巨大的渗透压而不会破裂，并能在相对低渗的环境下生存。

(2) 物质交换：细胞壁上有许多小孔以及特定的转运蛋白，可参与菌体内外的物质交换。

(3) 与致病性有关：乙型溶血性链球菌表面的 M 蛋白与 LTA 结合，在细菌表面形成微纤维(microfibril)，可介导菌体与宿主细胞黏附，是该菌重要的致病物质。金黄色葡萄球菌的 A 蛋白和乙型溶血性链球菌的 M 蛋白具有对抗免疫细胞的吞噬功能。磷壁酸和 LPS 具有抗原性，可以诱发机体的免疫应答。LPS 是内毒素，可使机体发热，白细胞增加，严重时可致休克死亡。

(4) 与耐药性有关：G^+ 菌肽聚糖缺失可使作用于细胞壁的抗菌药物失效(见 L 型细菌)；G^- 菌外膜通透性的降低阻止某些抗菌药物进入和外膜主动外排(泵出)抗菌药物，成为细菌重要的耐药机制。

(5) 与静电性有关：磷壁酸和 LPS 均带负电荷，能与 Mg^{2+} 等双价离子结合，有助于维持菌体内离子的平衡，调节细菌生理代谢。但 G^+ 菌磷壁酸带更多的负电荷，故等电点更低(G^+ 菌等电点为 pH 2~3，G^- 菌为 pH 4~5)，故更易与带正电荷的碱性染料结晶紫结合，被染成紫色。

(6) 其他：G^+ 菌的磷壁酸是重要表面抗原，与血清型分类有关。LPS 也可增强机体非特异性抵抗力，并有抗肿瘤等有益作用。

5. 细菌细胞壁缺陷型(细菌 L 型) 细菌细胞壁的肽聚糖结构受到理化或生物因素的直接破坏或合成被抑制，这种细胞壁受损的细菌在高渗环境下仍可存活者称为**细菌细胞壁缺陷型**。1935 年 Klieneberger Nobel 在英国 Lister 研究所研究念珠状链杆菌时发现，该菌培养物中有一种菌落形态类似支原体的微生物，就以研究所第一个字母命名为 **L 型(L-form)细菌**，或称**细菌 L 型**(bacterial L form)。现已发现几乎所有细菌、多种螺旋体和真菌均可产生 L 型。L 型有两种类型：G^+ 菌细胞壁缺失后，原生质仅被一层细胞膜包住，称为**原生质体**(protoplast)；G^- 菌肽聚糖层受损后尚有外膜保护，称为**原生质球**(spheroplast)。支原体是天然缺乏细胞壁的微生物，与细菌 L 型不同。

细菌 L 型在体内或体外、人工诱导或自然情况下均可形成，诱发因素很多，如溶菌酶(lysozyme)和溶葡萄球菌素(lysostaphin)、胆汁、抗体、补体等；或抑制细胞壁合成的药物，如 β-内酰胺类抗生素、杆菌肽、环丝氨酸、甘氨酸等；或因培养基中缺少合成细胞壁的成分，如二氨基庚二酸、赖氨酸等而获得。也可用亚硝基胍、紫外线、氯化锂等诱变获得。

细菌 L 型的形态因缺失细胞壁而呈高度多形性，大小不一，有球形、杆状和丝状等(图 1-7)。着色不匀，无论其原为 G^+ 或 G^- 菌，形成 L 型大多染成革兰阴性。细菌 L 型难以培养，其营养要

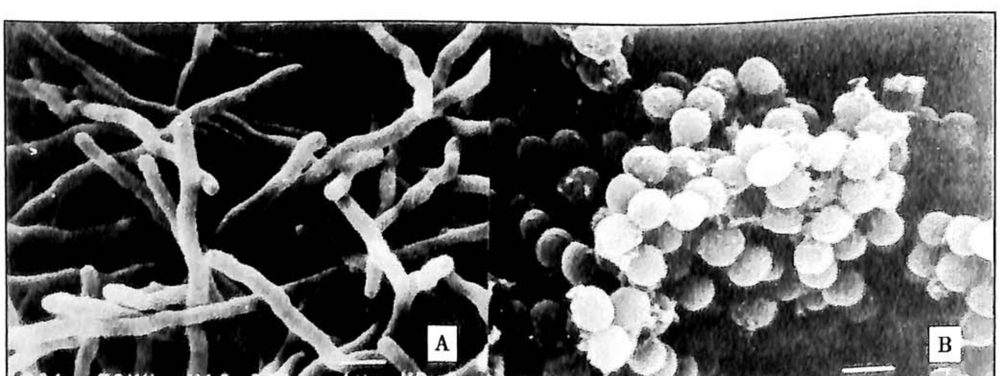


图 1-7 葡萄球菌 L 型

A. 临床标本分出的丝状 L 型菌落(扫描电镜 ×10 000)；B. 丝状 L 型菌落回复后(扫描电镜 ×10 000)

笔記

求基本与原菌相似，但需在高渗低琼脂含血清的培养基中生长。细菌L型生长繁殖较原菌缓慢，一般培养2~7天后在软琼脂平板上形成中间较厚、四周较薄的荷包蛋样细小菌落，也有的长成颗粒状或丝状菌落（图1-8）。L型在液体培养基中生长后呈较疏松的絮状颗粒，沉于管底，培养液则澄清。去除诱发因素后，有些L型可回复为原菌，有些则不能回复，其决定因素为L型是否含有残存的肽聚糖作为自身再合成的引物。

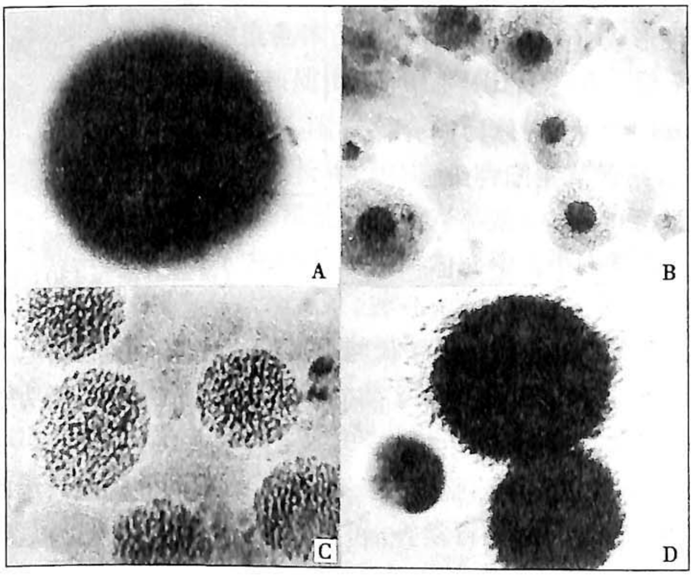


图1-8　细菌L型菌落类型

A. 原细菌型菌落；B. 荷包蛋样L型菌落；C. 颗粒型L型菌落；D. 丝状型L型菌落（×40）

某些L型仍有一定的**致病力**，通常引起**慢性感染**，如尿路感染、骨髓炎、心内膜炎等，并常在使用作用于细胞壁的抗菌药物（β-内酰胺类抗生素等）治疗过程中发生。**临床上遇有症状明显而标本常规细菌培养阴性者，应考虑细菌L型感染的可能性，宜作L型的专门分离培养，并更换抗菌药物。**

溶菌酶和青霉素是细菌L型最常用的人工诱导剂。**溶菌酶**和**溶葡萄球菌素**作用相同，能裂解肽聚糖中N-乙酰葡糖胺和N-乙酰胞壁酸之间的β-1,4糖苷键，破坏聚糖骨架，引起细菌裂解。**青霉素能与细菌竞争合成肽聚糖过程中所需的转肽酶**，抑制四肽侧链上D-丙氨酸与五肽桥之间的联结，使细菌不能合成完整的肽聚糖，在一般渗透压环境中，可导致细菌死亡。在高渗情况下，这些细胞壁缺陷的L型仍可活存。G^+菌细胞壁缺陷形成的原生质体，由于菌体内渗透压很高，可达20~25个大气压，故在普通培养基中很容易胀裂死亡，必须保存在高渗环境中。G^-菌细胞壁中肽聚糖含量较少，菌体内的渗透压（5~6个大气压）亦比G^+菌低，细胞壁缺陷形成的原生质球在低渗环境中仍有一定的抵抗力。

（二）细胞膜

细胞膜（cell membrane）或称**胞质膜**（cytoplasmic membrane），位于细胞壁内侧，紧包着细胞质。厚约7.5nm，柔韧致密，富有弹性，占细胞干重的10%~30%。细菌细胞膜的结构与真核细胞者基本相同，由磷脂和多种蛋白质组成，但不含胆固醇。细菌细胞膜是细菌赖以生存的重要结构之一，其主要功能如下：

1. **物质转运**　细菌细胞膜形成疏水性屏障，允许水和某些小分子物质被动性扩散、特异性营养物质的选择性进入和废物的排出、及透性酶参与营养物质的主动摄取过程。

2. **呼吸和分泌**　因细菌无线粒体结构，参与细胞氧化呼吸的细胞色素、组成呼吸链的其他酶类及三羧酸循环的某些酶均定位于细胞膜表面。因此，细菌细胞膜类似于真核细胞的线粒体，

笔记

在细胞呼吸和能量代谢中发挥重要作用。

3. 生物合成　细胞膜含有多种酶类，参与细胞结构（如肽聚糖、磷脂、鞭毛和荚膜等）的合成。**其中与肽聚糖合成有关的酶类（转肽酶或转糖基酶），是青霉素作用的主要靶位**，称为**青霉素结合蛋白**（penicillin-binding protein，PBP），与细菌的耐药性形成有关。

4. 参与细菌分裂　细菌部分细胞膜内陷、折叠、卷曲形成的囊状物，称为**中介体**（mesosome）。中介体多见于革兰阳性细菌（图1-9），常位于菌体侧面（侧中介体）或靠近中部（横膈中介体），可有一个或多个。中介体一端连在细胞膜上，另一端与核质相连，细胞分裂时中介体亦一分为二，各携一套核质进入子代细胞，有类似真核细胞纺锤丝的作用。中介体的形成，有效地扩大了细胞膜面积，相应地增加了酶的含量和能量的产生，其功能类似于真核细胞的线粒体，故亦称为**拟线粒体**（chondroid）。

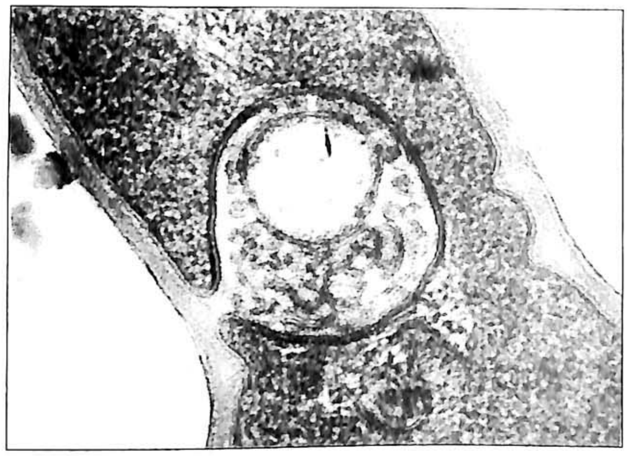


图 1-9　白喉棒状杆菌的中介体
（透射电镜 ×130 000，谢念铭提供）

细菌的分泌系统是一种贯穿细菌胞膜的特殊结构，由不同的膜镶嵌蛋白构成。其分泌的底物主要为蛋白质（如蛋白酶、溶血素、毒素等）和 DNA，可分布于细菌表面，或释放到细菌的外环境中，或者注入宿主细胞内，参与细菌的各种重要生命活动和致病作用。如通过分泌系统，细菌可将某些胞外酶分泌至胞外，消化营养物质，便于自身吸收利用；有些细菌蛋白可分泌到细胞膜外，参与菌毛和鞭毛的生物合成；而分泌到细胞外的细菌毒素及毒性酶类，则参与细菌的致病过程。根据细菌分泌系统的结构和功能不同，目前确认的有Ⅰ~Ⅶ型分泌系统。

（三）细胞质

细胞膜包裹的溶胶状物质为**细胞质**（cytoplasm）或称**原生质**（protoplasm），由水、蛋白质、脂类、核酸及少量糖和无机盐组成，其中含有许多重要结构。

1. 核糖体（ribosome）　**核糖体**是细菌合成蛋白质的场所，游离存在于细胞质中，每个细菌体内可达数万个。细菌核糖体**沉降系数为 70S，由 50S 和 30S 两个亚基**组成，以大肠埃希菌为例，其化学组成 66% 是 RNA（包括 23S、16S 和 5S rRNA），34% 为蛋白质。核糖体常与正在转录的 mRNA 相连呈"串珠"状，称多聚核糖体（polysome），使转录和转译偶联在一起。在生长活跃的细菌体内，几乎所有的核糖体都以多聚核糖体的形式存在。

细菌的核糖体与真核生物核糖体不同，后者沉降系数为 80S，由 60S 和 40S 两个亚基组成。有些抗生素如**链霉素**能与细菌核糖体的 **30S 亚基**结合，**红霉素**与细菌核糖体的 **50S 亚基**结合，均能干扰其蛋白质合成，从而杀死细菌；但这些药物对人类的核糖体则无作用。

2. 质粒（plasmid）　**质粒**是细菌**染色体外**的遗传物质，存在于细胞质中。**为闭合环状的双链** DNA，带有遗传信息，控制细菌某些特定的遗传性状。质粒能独立自行复制，随细菌分裂转移到子代细胞中。质粒不是细菌生长所必不可少的，失去质粒的细菌仍能正常存活。质粒除决定该菌自身的某种性状外，还可通过接合或转导作用等将有关性状传递给另一细菌。质粒编码的细菌性状有菌毛、细菌素、毒素和耐药性的产生等，与细菌致病性和耐药性有关。质粒的结构简单，易导入细胞中，常作为载体广泛应用于生物学研究中。

3. 胞质颗粒　细菌细胞质中含有多种颗粒，大多为贮藏的营养物质，包括糖原、淀粉等多糖、脂类、磷酸盐等。胞质颗粒又称为**内含物**（inclusion），不是细菌的恒定结构，不同菌有不同的胞质颗粒，同一菌在不同环境或生长期亦可不同。当营养充足时，胞质颗粒较多；养料和能源短缺时，颗粒减少甚至消失。胞质颗粒中有一种主要成分是 RNA 和**多偏磷酸盐**（polymetaphosphate）

笔记

的颗粒，其嗜碱性强，用亚甲蓝染色时着色较深呈紫色，称为**异染颗粒**（metachromatic granule）或**迂回体**（volutin）。异染颗粒常见于**白喉棒状杆菌**，位于菌体两端，故又称**极体**（polar body），有助于鉴定。

（四）核质

细菌是原核细胞，不具成形的核。细菌的遗传物质称为**核质**（nuclear material）或**拟核**（nucleoid），集中于细胞质的某一区域，多在菌体中央，**无核膜、核仁和有丝分裂器**；因其功能与真核细胞的染色体相似，亦称之为**细菌的染色体**（bacterial chromosome）。

细菌核质为**单倍体**。大多数细菌的核质由**单一的密闭环状 DNA 分子**反复回旋卷曲盘绕，形成一松散网状结构，相当于**一条染色体**，附着在横隔中介体或细菌膜上。序列分析证实大肠埃希菌 K-12 MG1655 的染色体 DNA 全长 4639kb，有 4289 个开放阅读框架（ORF）。但也发现**某些细菌有两个不同的染色体**，例如，霍乱弧菌和羊布鲁氏菌（*Vibrio cholerae* and *Brucella melitensis*）有两个不同的染色体。个别细菌甚至有三个或四个不同的染色体，而某些疏螺旋体的染色体则为线性 dsDNA 分子。与真核细胞染色体相比，细菌的染色体有显著的特点：① DNA 基因数目少，编码区连续，无内含子。②绝大多数编码蛋白质的结构基因保持单拷贝形式，很少有重复序列；但编码 rRNA 的基因通常是多拷贝，以便能装备大量的核糖体满足细菌的迅速生长繁殖。③没有核膜，DNA 转录过程中核糖体就可以与 mRNA 结合，使转录和翻译相偶联同步。

二、细菌的特殊结构

（一）荚膜

某些细菌在其细胞壁外包绕一层**黏液性物质**，为多糖或蛋白质的多聚体，用理化方法去除后并不影响菌细胞的生命活动。凡黏液性物质牢固地与细胞壁结合，厚度≥ 0.2μm，边界明显者称为**荚膜**（capsule）或大荚膜（macrocapsule）（图 1-10）；厚度 < 0.2μm 者称为**微荚膜**（microcapsule），如伤寒沙门菌的 Vi 抗原、大肠埃希菌的 K 抗原等。若黏液性物质疏松地附着于菌细胞表面，边界不明显且易被洗脱者称为**黏液层**（slime layer）。荚膜是细菌致病重要的毒力因子，也是鉴别细菌的重要标志。

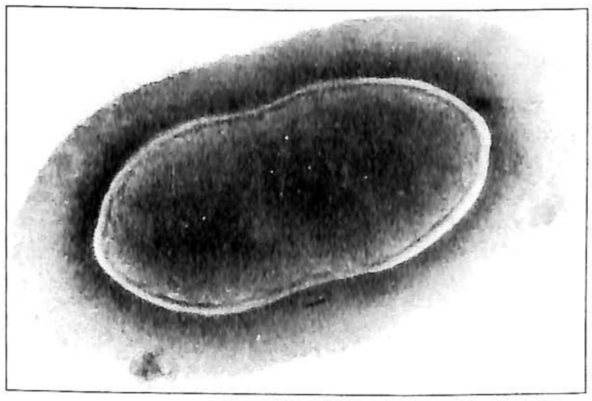


图 1-10　肺炎链球菌荚膜
（透射电镜 ×42 000）

1. **荚膜的化学组成**　大多数细菌的荚膜是**多糖**，但炭疽芽胞杆菌、鼠疫耶尔森菌等少数菌的荚膜为**多肽**。由多糖组成的荚膜和黏液层称为糖萼（glycocalyx）。荚膜多糖为高度水合分子，含水量 95% 以上，与菌细胞表面的磷脂或脂质 A 共价结合。多糖分子组成和构型的多样化使其结构极为复杂，成为**血清学分型**的基础。例如肺炎链球菌的荚膜多糖物质的抗原至少可分成 85 个血清型。荚膜与同型抗血清结合发生反应后即逐渐增大，出现**荚膜肿胀反应**，可借此将细菌定型。

荚膜对一般碱性染料亲和力低，不易着色，普通染色只能见到菌体周围有未着色的透明圈。如用**墨汁负染**，则荚膜显现更为清楚。用特殊染色法可将荚膜染成与菌体不同的颜色。

荚膜的形成受遗传的控制和环境条件的影响。一般在动物体内或含有血清或糖的培养基中容易形成荚膜，在普通培养基上或连续传代则易消失。有荚膜的细菌在固体培养基上形成黏液（M）型或光滑（S）型菌落，失去荚膜后其菌落变为粗糙（R）型。

2. **荚膜的功能**　荚膜和微荚膜具有相同的功能。

笔记

(1) 抗吞噬作用:荚膜具有保护细菌**抵抗宿主吞噬细胞的吞噬和消化**的作用,增强细菌的**侵袭力**,因而荚膜是病原菌的重要**毒力因子**。荚膜多糖亲水和带负电荷,与吞噬细胞膜有静电排斥力,故能阻滞表面吞噬活性。例如肺炎链球菌,有荚膜株数个菌就可使实验小鼠致死,无荚膜株则需上亿个菌才能使小鼠死亡。

(2) 黏附作用:荚膜多糖可使细菌彼此粘连,也可黏附于组织细胞或无生命物体表面,参与**生物被膜**(biofilm)的形成,是引起感染的重要因素。变异链球菌(*S. mutans*)依靠荚膜将其固定在牙齿表面,利用口腔中的蔗糖产生大量的乳酸,积聚在附着部位形成生物被膜,导致牙齿珐琅质的破坏,发生龋齿。有些具有荚膜细菌(例如铜绿假单胞菌),在住院病人的各种导管内黏附定居形成生物被膜,是医院内感染发生的重要因素。

(3) 抗有害物质的损伤作用:荚膜处于菌细胞的最外层,有保护菌体避免和减少受溶菌酶、补体、抗体和抗菌药物等有害物质的损伤作用。

(二) 鞭毛

许多细菌,包括所有的弧菌和螺菌,约半数的杆菌和个别球菌,在菌体上附有细长并呈波状弯曲的丝状物,少仅1~2根,多者达数百根。这些丝状物称为**鞭毛**(flagellum),是细菌的运动器官。鞭毛长5~20μm,直径12~30nm,需用电子显微镜观察(图1-11),或经特殊染色法使鞭毛增粗后才能在普通光学显微镜下看到(图1-12)。

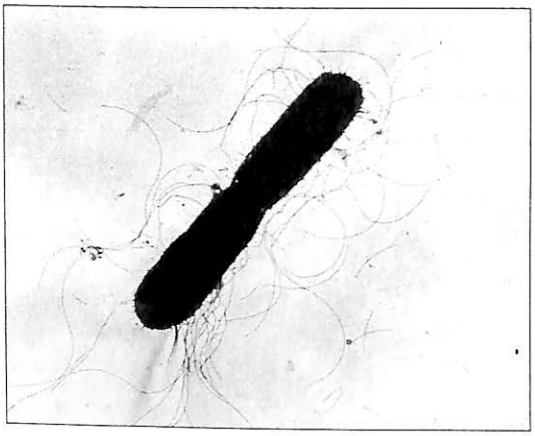


图1-11 破伤风梭菌的周身鞭毛
(透射电镜 ×16 000,谢念铭提供)

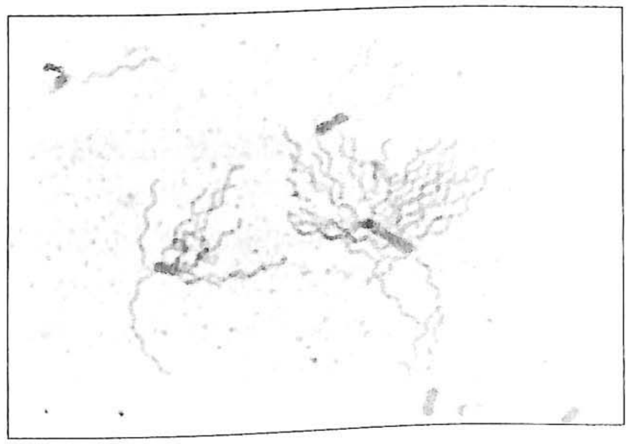


图1-12 伤寒沙门菌的鞭毛
(鞭毛染色 ×1900)

根据鞭毛的数量和部位,可将鞭毛菌分成4类(图1-13):①**单毛菌**(mono trichate),只有一根鞭毛,位于菌体一端,如霍乱弧菌;②**双毛菌**(amphitrichate),菌体两端各有一根鞭毛,如空肠弯曲菌;③**丛毛菌**(lophotrichate),菌体一端或两端有一丛鞭毛,如铜绿假单胞菌;④**周毛菌**(peritrichate),菌体周身遍布许多鞭毛,如伤寒沙门菌。

1. **鞭毛的结构** 鞭毛自细胞膜长出,游离于菌细胞外,由基础小体、钩状体和丝状体三个部分组成(图1-14)。

鞭毛是从尖端生长,在菌体内形成的鞭毛蛋白分子不断地添加到鞭毛的末端。若用机械方法去除鞭毛,新的鞭毛很快合成,3~6分钟内恢复动力。各菌种的鞭毛蛋白结构不同,具有高度的抗原性,称为**鞭毛(H)抗原**。

2. **鞭毛的功能**

(1) 为细菌的运动器官:具有鞭毛的细菌在液体环境中能主动、自由游动,速度迅速,如单鞭毛的霍乱弧菌每秒移动可达55μm,周毛菌移动较慢,每秒25~30μm。**细菌的运动有化学趋向性,常向营养物质处前进,而逃离有害物质**。

(2) 有些细菌鞭毛与**致病性**有关:例如**霍乱弧菌**、**空肠弯曲菌**等通过活泼的鞭毛运动穿透小

笔记

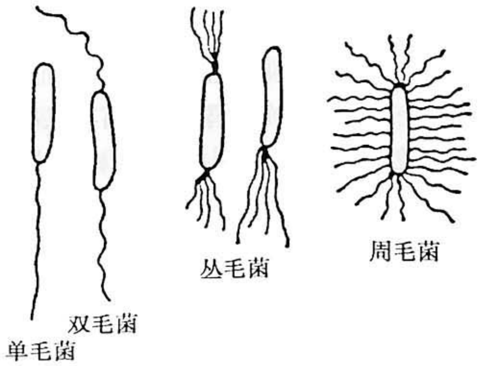


图 1-13　细菌鞭毛的类型

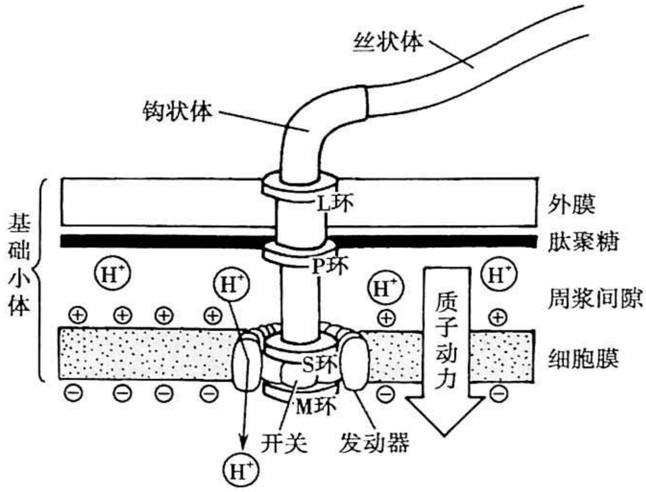


图 1-14　大肠埃希菌鞭毛根部结构模式图

肠黏膜表面覆盖的黏液层，使菌体黏附于肠黏膜上皮细胞，产生毒性物质导致病变发生。

(3) 细菌鉴定和分类：根据细菌能否运动（有无动力），鞭毛的数量、部位和特异的抗原性，可用于**鉴定细菌和进行细菌分类**。

（三）菌毛

许多 G⁻ 菌和少数 G⁺ 菌菌体表面存在着一种直的、比鞭毛更细、更短的丝状物，称为**菌毛**（pilus 或 fimbriae）。菌毛由结构蛋白亚单位**菌毛蛋白**（pilin）组成，螺旋状排列成圆柱体，新形成的菌毛蛋白分子插入菌毛的基底部。**菌毛蛋白具有抗原性**，其编码基因位于细菌的染色体或质粒上。菌毛在普通光学显微镜下看不到，**必须用电子显微镜观察**（图 1-15）。

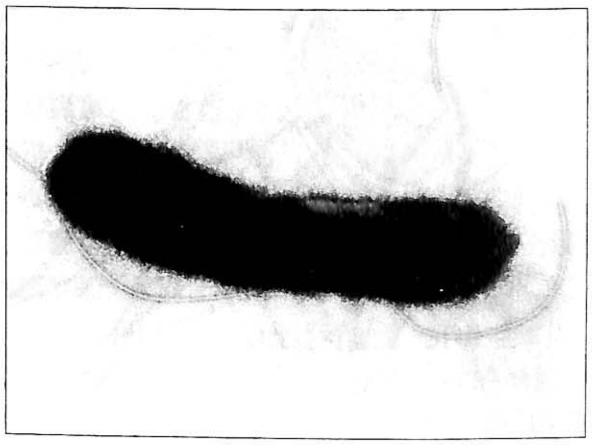


图 1-15　大肠埃希菌的普通菌毛和性菌毛
（透射电镜 ×42 500，谢念铭、袁增麟提供）

根据功能不同，菌毛可分为**普通菌毛**和**性菌毛**两类。

1. **普通菌毛**（common pilus）　长 0.2~2μm，直径 3~8nm。遍布菌细胞表面，每菌可达数百根。这类菌毛是细菌的**黏附结构**，能与宿主细胞表面的特异性受体结合，是细菌感染的第一步。因此，菌毛与细菌的**致病性**密切相关。菌毛的受体常为糖蛋白或糖脂，与菌毛结合的特异性决定了宿主的易感部位。同样，如果红细胞表面具有菌毛受体的相似成分，不同的菌毛就会引起不同类型的红细胞凝集，称为血凝（hemagglutination，HA），借此鉴定菌毛。例如大肠埃希菌的 **I 型菌毛**（type Ⅰ 或 common pili）可黏附于肠道和尿道黏膜上皮细胞表面，也能凝集豚鼠红细胞，但可被 D- 甘露糖所抑制，称为甘露糖敏感性血凝（MSHA）。致肾盂肾炎大肠埃希菌（pyelonephritic *E. coli* 或 uropathogenic *E. coli*，UPEC）的 **P 菌毛**（pyelo-nephritis-associated pili，P pili），常黏附于肾脏的集合管和肾盏，还能凝集 P 血型阳性红细胞，且不被甘露糖所抑制，故称为甘露糖抗性血凝（MRHA）。UPEC 是上行性尿路感染的重要致病菌。**有些细菌的普通菌毛是由质粒编码的，而另一些细菌的普通菌毛则由染色体控制**。例如，肠产毒素性大肠埃希菌（enterotoxigenic *E. coli*，ETEC）的**定植因子**是一种特殊类型的菌毛（CFA/Ⅰ，CFA/Ⅱ），黏附于小肠黏膜细胞，编码定植因子和肠毒素的基因均位于**可接合传递质粒**上，是该菌重要毒力因子。霍乱弧菌、肠致病性大肠埃希菌（EPEC）和淋病奈瑟菌的菌毛都属于**Ⅳ型菌毛**，由染色体控制，在所致的肠道或泌尿生殖道感染中起到关键作用。

笔记

有菌毛的菌株可抵抗肠蠕动或尿液的冲洗作用而有利于定居，一旦丧失菌毛，其致病力亦随之消失。

在革兰阳性球菌中，A 群链球菌的菌毛与 M 蛋白和 LTA 结合在一起，这些结构介导该菌与宿主黏膜上皮细胞的黏附。

2. 性菌毛(sex pilus) 仅见于少数 G^- 菌。数量少，一个菌只有 1~4 根。比普通菌毛长而粗，**中空呈管状**。性菌毛由一种称为**致育因子**(fertility factor，F factor)的**质粒编码**，故性菌毛又称 F 菌毛。带有性菌毛的细菌称为 F^+ 菌，无性菌毛者称为 F^- 菌。当 F^+ 菌与 F^- 菌相遇时，F^+ 菌的性菌毛与 F^- 菌相应的性菌毛受体(如外膜蛋白 A)结合，F^+ 菌体内的质粒或染色体 DNA 可通过中空的性菌毛进入 F^- 菌体内，这个过程称为**接合**(conjugation)。细菌的**致育性(编码性菌毛的能力)**、**毒力**、**耐药性**等性状可通过此方式传递。此外，性菌毛也是某些噬菌体吸附于菌细胞的受体。

(四) 芽胞

某些细菌在一定的环境条件下，胞质脱水浓缩，在菌体内部形成一个圆形或卵圆形小体，是细菌的**休眠形式**，称为**芽胞**(spore)。**产生芽胞的细菌都是 G^+ 菌**，芽胞杆菌属(炭疽芽胞杆菌等)和梭菌属(破伤风梭菌等)是主要形成芽胞的细菌。

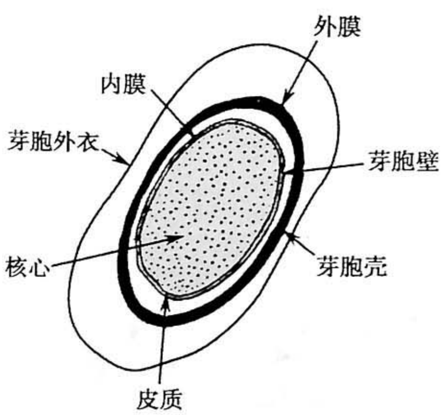


图 1-16 细菌芽胞的结构

1. 芽胞的形成与发芽 细菌芽胞的形成受**遗传因素**的控制和**环境因素**的影响。芽胞一般只是**在动物体外对细菌不良的环境条件下**形成，其形成条件因菌种而异。如炭疽芽胞杆菌在有氧下形成，而破伤风梭菌则相反。**营养缺乏**尤其是 C、N、P 元素不足时，细菌生长繁殖减速，可启动芽胞形成的基因。

成熟的芽胞具有多层膜结构，由内向外依次是核心、内膜、芽胞壁、皮质、外膜、芽胞壳和芽胞外衣(图 1-16)。**芽胞带有完整的核质、酶系统和合成菌体组分的结构，能保存细菌的全部生命必需物质**。

芽胞形成后，细菌即失去繁殖的能力，菌体即成为空壳，有些芽胞可从菌体脱落游离。**一个细菌只形成一个芽胞，一个芽胞发芽也只生成一个菌体**，细菌数量并未增加，**故芽胞不是细菌的繁殖方式**。与芽胞相比，未形成芽胞而具有繁殖能力的菌体称为**繁殖体**(vegetative form)。芽胞形成后，若在机械力、热、pH 改变等刺激作用下，破坏其芽胞壳，并供给水分和营养，芽胞可发芽，形成新的菌体。

芽胞壁厚，折光性强，不易着色。染色时需经媒染、加热等处理。芽胞的大小、形状、位置等随菌种而异，有重要的鉴别价值(图 1-17)。例如炭疽芽胞杆菌的芽胞为卵圆形，比菌体小，位于菌体中央；破伤风梭菌芽胞正圆形，比菌体大，位于顶端，状如鼓槌(图 1-18)；肉毒梭菌芽胞亦比菌体大，位于次极端。

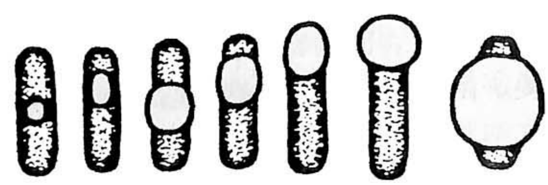


图 1-17 细菌芽胞的形态、大小和位置

2. 芽胞的功能及其医学意义

(1) 抵抗力强：细菌的芽胞**对热力、干燥、辐射、化学消毒剂等理化因素均有强大的抵抗力**。一般细菌繁殖体在 80℃水中迅速死亡，而有的细菌芽胞可耐 100℃沸水数小时。被炭疽芽胞杆菌芽胞污染的草原，传染性可保持 20~30 年。细菌芽胞抵抗力强与其特殊的结构和组成有关。芽胞含水量少(约为繁殖体的 40%)，蛋白质不易受热变性；芽胞具有多层致密的厚膜，理化因素不易透入；芽胞的核心和皮质中含有**吡啶二羧酸**(dipicolinic acid，DPA)，DPA 与钙结合生成的盐能提高芽胞中各种酶的热稳定性。芽胞形成过程中很快合成 DPA，同时也获得耐热性；芽胞发芽时，DPA 从芽胞内渗出，其耐热性亦随之丧失。

笔记

（2）杀死细菌的芽胞是作为判断灭菌效果的指标：被芽胞污染的用具、敷料、手术器械等，用一般方法不易将其杀死，**杀灭芽胞最可靠的方法是压力蒸汽灭菌法**，进行压力蒸汽灭菌时，**应以芽胞是否被杀死作为判断灭菌效果的指标**。

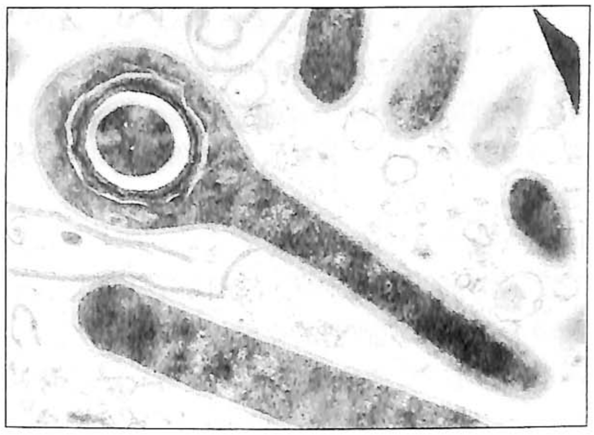


图 1-18　破伤风梭菌芽胞
（透射电镜 ×21 000，谢念铭提供）

（3）细菌芽胞是某些外源性感染的重要来源：人类有四种严重的疾病是由能形成芽胞的细菌引起的。这些细菌是厌氧芽胞梭菌中的产气荚膜梭菌、破伤风芽胞梭菌和肉毒梭菌等，需氧芽胞杆菌中的炭疽芽胞杆菌。这些**细菌的芽胞并不直接引起疾病，仅当芽胞发芽成为繁殖体后，才能迅速大量繁殖而致病**，可分别引起气性坏疽、破伤风、食物中毒和人兽共患的炭疽病。

第三节　细菌形态与结构检查法

一、显微镜放大法

细菌形体微小，肉眼不能直接看到，必须借助显微镜放大后才能看到。

1. 普通光学显微镜　普通光学显微镜（light microscope）以可见光（日光或灯光）为光源，波长0.4~0.7μm，平均约0.5μm。其分辨率(resolving power)为光波波长的一半，即0.25μm。0.25μm的微粒经油镜放大 1000 倍后成 0.25mm，一般细菌都大于 0.25μm。但用普通光学显微镜观察细菌时，仍需将细菌进行染色，以增加其与周围环境的对比度，以便人眼睛能看清楚。

2. 电子显微镜　电子显微镜（electron microscope）是利用电子流代替可见光波，以电磁圈代替放大透镜。电子波长极短，约为 0.005nm，其放大倍数可达数十万倍，能分辨 1nm 的微粒。不仅能看清细菌的外形，内部超微结构也可一览无遗。电子显微镜显示的形象，可投射到荧光屏上，也可照相拍摄。目前使用的电子显微镜有两类，即**透射电子显微镜**（transmission electron microscope，TEM）和**扫描电子显微镜**（scanning electron microscope，SEM）。SEM 的分辨率一般较 TEM 低，但可清楚地显露观察物体的三维立体图像。配合电子显微镜观察使用的标本制备方法有用磷钨酸或钼酸铵作负染色、投影法(shadowing)、超薄切片(ultrathin section)、冰冻蚀刻法(freeze etching)等。电子显微镜标本须在真空干燥的状态下检查，故不能观察活的微生物。

此外，尚有**暗视野显微镜**（darkfield microscope）、**相差显微镜**（phase contrast microscope）、**荧光显微镜**（fluorescence microscope）和**激光共聚焦显微镜**（confocal microscope）等，适用于观察不同情况下的细菌形态和（或）结构。

二、染　色　法

细菌体形小、半透明，经染色后才能观察较清楚。染色法是使染色剂与细菌细胞质结合，最常用的染色剂是盐类。其中，碱性染色剂（basic stain）由有色的阳离子和无色的阴离子组成，酸性染色剂（acidic stain）则相反。**菌细胞富含核酸，可以与带正电荷的碱性染色剂结合**；酸性染色剂不能使细菌着色，而使背景着色形成反差，故称为**负染**（negative staining）。

染色法有多种，最常用和最重要的**分类鉴别染色法是革兰染色法**（Gram stain）。该法是丹麦细菌学家革兰（Hans Christian Gram，1853—1938）于 1884 年创建，至今仍在广泛应用。标本经固

笔记

定后，先用碱性染料**结晶紫初染**，再加**碘液媒染**，使之生成结晶紫 - 碘复合物。此时细菌均染成深紫色。然后用 95% **乙醇脱色**，有些细菌被脱色，有些不能。最后用**稀释复红或沙黄复染**。此法可将细菌分为两大类：不被乙醇脱色仍保留**紫色者为革兰阳性菌**，被乙醇脱色后复染成**红色者为革兰阴性菌。革兰染色法在鉴别细菌、选择抗菌药物、研究细菌致病性等方面具有重要的意义。**

革兰染色法的原理尚未完全阐明。但与菌细胞壁结构密切相关，如果在结晶紫 - 碘染色之后，乙醇脱色之前去除革兰阳性菌的细胞壁，革兰阳性菌细胞就能够被脱色。目前，对革兰阳性和革兰阴性菌细胞壁的化学组分已十分清楚，但对革兰阳性菌细胞壁阻止染料被溶出的原因尚不清楚。**目前，该方法已逐步被更先进、更科学的细菌遗传学分类鉴定方法，诸如包括 DNA 的 G+C mol% 测定、DNA 杂交、16S rRNA 寡核苷酸序列分析以及聚合酶链反应（PCR）等所取代。**

目前应用的细菌染色法中，还有单染色法、抗酸染色法以及荚膜、芽胞、鞭毛、细胞壁、核质等特殊染色法。

（彭宜红）

笔记

第二章 细菌的生理

细菌的生理活动包括**摄取营养物质**和**合成各种所需物质**，进行**新陈代谢**及**生长繁殖**。整个生理活动的中心是新陈代谢，细菌的代谢活动十分活跃而且多样化，乃至繁殖迅速是其显著的特点。研究细菌的生理活动不仅是基础生物学科的范畴，而且与医学、环境卫生、工农业生产等都密切相关。诸如对于人体的正常菌群，特别是益生菌(probiotic)，如何促进其生长繁殖和产生有益的代谢产物；对于致病菌，了解其代谢与致病的关系，设计和寻找有关诊断和防治的方法；还可以研究如何利用细菌的代谢来净化环境，开发极端环境的微生物资源等。这些工作都具有重要的理论和实际意义。

第一节 细菌的理化性状

一、细菌的化学组成

细菌和其他生物细胞相似，含有多种化学成分，包括水、无机盐、蛋白质、糖类、脂质和核酸等。水分是菌细胞重要的组成部分，占细胞总重量的75%~90%。菌细胞去除水分后，主要为有机物，包括碳、氢、氮、氧、磷和硫等。还有少数的无机离子，如钾、钠、铁、镁、钙、氯等；用以构成菌细胞的各种成分及维持酶的活性和跨膜化学梯度。细菌尚含有一些原核细胞型微生物所特有的化学组成，如肽聚糖、胞壁酸、磷壁酸、D型氨基酸、二氨基庚二酸、吡啶二羧酸等。这些物质在真核细胞中还未发现。

二、细菌的物理性状

1. 光学性质 细菌为半透明体。当光线照射至细菌，部分被吸收，部分被折射，故细菌悬液呈混浊状态。菌数越多浊度越大，使用比浊法或分光光度计可以粗略地估计细菌的数量。由于细菌具有这种光学性质，可用相差显微镜观察其形态和结构。

2. 表面积 细菌体积微小，相对表面积大，有利于同外界进行物质交换。如葡萄球菌直径约1μm，则$1cm^3$体积的表面积可达60 000cm^2；直径为1cm的生物体，每$1cm^3$体积的表面积仅6cm^2，两者相差1万倍。因此细菌的代谢旺盛，繁殖迅速。

3. 带电现象 细菌固体成分的50%~80%是蛋白质，蛋白质由兼性离子氨基酸组成。G^+菌的pH为2~3，而G^-菌的pH为4~5，故在近中性或弱碱性环境中，细菌均带负电荷，尤以前者所带电荷更多。细菌的带电现象与细菌的染色反应、凝集反应、抑菌和杀菌作用等都有密切关系。

4. 半透性 细菌的细胞壁和细胞膜都有半透性，允许水及部分小分子物质通过，有利于吸收营养和排出代谢产物。

5. 渗透压 细菌体内含有高浓度的营养物质和无机盐，一般G^+菌的渗透压高达20~25个大气压，G^-菌为5~6个大气压。细菌所处一般环境相对低渗，但因有坚韧细胞壁的保护不致崩裂。若处于比菌内渗透压更高的环境中，菌体内水分逸出，胞质浓缩，细菌就不能生长繁殖。

笔记

第二节　细菌的营养与生长繁殖

一、细菌的营养物质

充足的营养物质可以为细菌的新陈代谢及生长繁殖提供必需的原料和能量，一般包括**水**、**碳源**、**氮源**、**无机盐**和**生长因子**等。

1. **水**　细菌所需营养物质必须先溶于水，营养的吸收与代谢均需有水才能进行。

2. **碳源**　各种碳的无机或有机物都能被细菌吸收和利用，合成菌体组分和作为获得能量的主要来源。病原菌主要从糖类获得碳。

3. **氮源**　细菌对氮源的需要量仅次于碳源，其主要功能是作为菌体成分的原料。很多细菌可以利用有机氮化物，病原性微生物主要从氨基酸、蛋白胨等有机氮化物中获得氮。少数病原菌如克雷伯菌亦可利用硝酸盐甚至氮气，但利用率较低。

4. **无机盐**　细菌需要各种无机盐以提供细菌生长的各种元素，其需要浓度在 10^{-4}~10^{-3}mol/L 的元素为常用元素，其需要浓度在 10^{-8}~10^{-6}mol/L 元素为微量元素。前者如磷、硫、钾、钠、镁、钙、铁等；后者如钴、锌、锰、铜、钼等。各类无机盐的功用如下：①构成有机化合物，成为菌体的成分；②作为酶的组成部分，维持酶的活性；③参与能量的储存和转运；④调节菌体内外的渗透压；⑤某些元素与细菌的生长繁殖和致病作用密切相关。例如白喉棒状杆菌在含铁 0.14mg/L 的培养基中毒素量最高，铁的浓度达到 0.6mg/L 时则完全不产毒。在人体内，大部分铁均结合在铁蛋白、乳铁蛋白或转铁蛋白中，细菌必须与人体细胞竞争得到铁才能生长繁殖。具有**载铁体**(siderophore)的细菌就有此竞争力，它可与铁螯合和溶解铁，并带入菌体内以供代谢之需。如结核分枝杆菌的有毒株和无毒株的一个重要区别就是前者有一种称为分枝菌素(mycobactin)的载铁体，而后者则无。一些微量元素并非所有细菌都需要，不同菌只需其中的一种或数种。

5. **生长因子**　许多细菌的生长还需一些自身不能合成的**生长因子**(growth factor)。它们通常为有机化合物，例如维生素、某些氨基酸、嘌呤、嘧啶等。少数细菌还需特殊的生长因子，如流感嗜血杆菌需要X、V两种因子，X因子是高铁血红素，V因子是辅酶Ⅰ或辅酶Ⅱ，两者为细菌呼吸所必需。

二、细菌摄取营养物质的机制

水和水溶性物质可以通过具有半透膜性质的细胞壁和细胞膜进入细胞内，蛋白质、多糖等大分子营养物需经细菌分泌的胞外酶的作用分解成小分子物质才能被吸收。

营养物质进入菌体内的方式有**被动扩散**和**主动转运系统**。

1. **被动扩散**　被动扩散指营养物质从浓度高向浓度低的一侧扩散，其驱动力是浓度梯度，不需要提供能量。将不需要任何细菌组分的帮助，营养物质就可以进入细胞质内的过程称为简单扩散。如果需要菌细胞的特异性蛋白来帮助或促进营养物质的跨膜转运称为易化扩散。如甘油的转运就属于后者，进入细胞内的甘油需要被甘油激酶催化形成磷酸甘油才能在菌体内积累。

2. **主动转运**　是细菌吸收营养物质的主要方式，其特点是营养物质从浓度低向浓度高的一侧转运，并需要提供能量。主要有如下两种方式：

(1) ABC 转运(ABC transport)：G^-菌的特异性结合蛋白位于周浆间隙，G^+菌的特异性结合蛋白位于细胞的外表面。营养物与特异性结合蛋白形成复合物后，引起后者构型的改变，继而将营养物转送给细胞膜上的 ATP 结合型载体(ATP-binding cassette-type carrier)，导致 ATP 水解，提供的能量打开膜孔，使营养物质进入细胞内。

笔记

(2) 离子偶联转运(ion-coupled transport):该系统利用膜内外两侧质子或离子浓度差产生的质子动力(proton motive force)或钠动力(sodium motive force)作为驱使营养物质越膜转移的能量。转运营养物质的载体是电化学离子梯度透性酶,这种酶是一种能够进行可逆性氧化还原反应的疏水性膜蛋白,即在氧化状态与营养物质结合,而在还原状态时其构象发生变化,使营养物质释放进入胞质内。这种方式在需氧菌极为常见。

(3) 基团转移(group translation):严格地讲,基团转移不是主动转运,它不涉及营养物质的浓度梯度,而是利用能量将物质转运与代谢相结合。如大肠埃希菌摄入葡萄糖需要的磷酸转移酶系统,是由细胞膜上的载体蛋白首先在胞质内从磷酸烯醇丙酮酸获得磷酸基团后,在细胞膜的外表面与葡萄糖相结合,将其送入胞质内后释放出6-磷酸葡萄糖。经过磷酸化的葡萄糖在胞内累积,不能再逸出菌体。该系统的能量供体是磷酸烯醇丙酮酸。

(4) 特异性转运(special transport):几乎所有的细菌生长都需要铁。细菌分泌载铁体来摄取铁,载铁体是异羟肟酸($-CONH_2OH$)的衍生物,与Fe^{3+}螯合能力极强,形成铁-异羟肟酸复合物,通过贯穿细菌外膜、周浆间隙和内膜的蛋白质协同作用,使铁进入菌细胞内并释放出来。载铁体与某些细菌的致病性有关。有的细菌以特异性受体与宿主的转铁蛋白或乳铁蛋白结合,依赖于提供的能量将铁转运至细胞内。

需要指出的是各种细菌的转运营养物质的方式不同,即使对同一种物质,不同细菌的摄取方式也不一样。

三、细菌的营养类型

各类细菌的酶系统不同,代谢活性各异,因而对营养物质的需要也不同。根据细菌所利用的能源和碳源的不同,将细菌分为**自养菌**和**异养菌**两大营养类型。

1. 自养菌(autotroph)　该类菌以简单的**无机物**为原料,如利用CO_2、CO_3^{2-}作为碳源,利用N_2、NH_3、NO_2^-、NO_3^-等作为氮源,合成菌体成分。这类细菌所需能量来自无机物的氧化称为**化能自养菌**(chemotroph),或通过光合作用获得能量称为**光能自养菌**(phototroph)。

2. 异养菌(heterotroph)　该类菌必须以多种**有机物**为原料,如蛋白质、糖类等,才能合成菌体成分并获得能量。异养菌包括**腐生菌**(saprophyte)和**寄生菌**(parasite)。腐生菌以**动植物尸体、腐败食物**等作为营养物;寄生菌寄生于**活体内**,从宿主的有机物获得营养。**所有的病原菌都是异养菌,大部分属寄生菌**。

四、影响细菌生长的因素

营养物质和适宜的环境是细菌生长繁殖的必备条件。

1. 营养物质　**充足的营养物质**可以为细菌的新陈代谢及生长繁殖提供必要的原料和充足的能量。

2. 氢离子浓度(pH)　每种细菌都有一个可生长的pH范围,以及**最适生长pH**。大多数**嗜中性细菌**生长的pH范围是6.0~8.0,**嗜酸性细菌**最适生长pH可低至3.0,**嗜碱性细菌**最适生长pH可高达10.5。**多数病原菌最适pH为7.2~7.6**,但霍乱弧菌在pH 8.4~9.2生长最好,而结核分枝杆菌生长的最适pH为6.5~6.8。细菌依靠细胞膜上的质子转运系统调节菌体内的pH,使其保持稳定,包括ATP驱使的质子泵,Na^+/H^+和K^+/H^+交换系统。

3. 温度　各类细菌对温度的要求不一。分为**嗜冷菌**(psychrophile),其生长温度范围-5~30℃,最适生长温度为10~20℃;**嗜温菌**(mesophile),生长温度范围10~45℃,最适为20~40℃;**嗜热菌**(thermophile),生长温度范围25~95℃,最适为50~60℃。**病原菌**在长期进化过程中适应人体环境,**均为嗜温菌,最适生长温度为人的体温,即37℃**。当细菌突然暴露于高出适宜生长温度的环境时,可暂时合成**热休克蛋白**(heat-shock proteins)。这种蛋白对热有抵抗性,并

笔记

可稳定菌体内热敏感的蛋白质。

4. 气体 根据细菌代谢时对分子氧的需要与否，可以分为四类。

(1) **专性需氧菌**(obligate aerobe)：具有完善的呼吸酶系统，需要分子氧作为受氢体以完成需氧呼吸，**仅能在有氧环境下生长**。如结核分枝杆菌、铜绿假单胞菌。

(2) **微需氧菌**(microaerophilic bacterium)：在**低氧压(5%~6%)生长最好**，氧浓度 > 10% 对其有抑制作用。如空肠弯曲菌、幽门螺杆菌。

(3) **兼性厌氧菌**(facultative anaerobe)：兼有需氧呼吸和无氧发酵两种功能，**不论在有氧或无氧环境中都能生长**，但以有氧时生长较好。大多数病原菌属于此。

(4) **专性厌氧菌**(obligate anaerobe)：缺乏完善的呼吸酶系统，利用氧以外的其他物质作为受氢体，**只能在低氧分压或无氧环境中进行发酵**。有游离氧存在时，不但不能利用分子氧，且还将受其毒害，甚至死亡。这是因为细菌在有氧环境中进行物质代谢常产生**超氧阴离子**(O_2^-)和**过氧化氢**(H_2O_2)，两者都有强烈的杀菌作用。厌氧菌因缺乏**过氧化氢酶**、**过氧化物酶**或**氧化还原电势高的呼吸酶类**，故在有氧时受到有毒氧基团的影响，就不能生长繁殖。如破伤风梭菌、脆弱类杆菌。但不同种属的细菌，其厌氧程度有所差别。

另外，CO_2 对细菌的生长也很重要。大部分细菌在新陈代谢过程中产生的 CO_2 可满足其需要。有些细菌如脑膜炎奈瑟菌和布鲁氏菌，在从标本初次分离时，需人工供给 5% ~10% 的 CO_2，可促进细菌迅速生长繁殖。

5. 渗透压 一般培养基的盐浓度和渗透压对大多数细菌是安全的，少数细菌如嗜盐菌(halophilic bacterium)需要在高浓度(30g/L)的 NaCl 环境中生长良好。

五、细菌的生长繁殖

细菌的生长繁殖表现为细菌的**组分**和**数量**的增加。

(一) 细菌个体的生长繁殖

细菌一般以简单的**二分裂**(binary fission)方式进行**无性繁殖**。在适宜条件下，多数细菌繁殖速度很快。细菌分裂数量倍增所需要的时间称为**代时**(generation time)，多数细菌为 20~30 分钟。个别细菌繁殖速度较慢，如结核分枝杆菌的代时达 18~20 小时。

细菌分裂时菌细胞首先增大，染色体复制。革兰阳性菌的染色体与中介体相连，当染色体复制时，中介体一分为二，各向两端移动，分别将复制好的一条染色体拉向细胞的一侧。接着染色体中部的细胞膜向内陷入，形成横隔。同时细胞壁亦向内生长，最后肽聚糖水解酶使细胞壁的肽聚糖的共价键断裂，分裂成为两个菌细胞。革兰阴性菌无中介体，染色体直接连接在细胞膜上。复制产生的新染色体则附着在邻近的一点上，在两点间形成的新细胞膜将各自的染色体分隔在两侧。最后细胞壁沿横隔内陷，整个细胞分裂成两个子代细胞。

(二) 细菌群体的生长繁殖

细菌生长速度很快，一般细菌约 20 分钟分裂一次。若按此速度计算，一个细胞经 7 小时可繁殖到约 200 万个，10 小时后可达 10 亿个以上，随着时间的延长细菌群体将会庞大到难以想象的程度。但事实上并非如此，由于细菌繁殖中营养物质的逐渐耗竭，有害代谢产物的逐渐积累，细菌不可能始终保持高速度的无限繁殖。经过一段时间后，细菌繁殖速度渐减，死亡菌数增多，活菌增长率随之下降并趋于停滞。

将一定数量的细菌接种于适宜的液体培养基中，连续定时取样检查活菌数，可发现其生长过程的规律性。**以培养时间为横坐标，培养物中活菌数的对数为纵坐标，可绘制出一条生长曲线**(growth curve)(图 2-1)。

根据生长曲线，细菌的群体生长繁殖可分为四期：

笔记

1. 迟缓期(lag phase) 细菌进入新环境后的短暂适应阶段。该期菌体增大，代谢活跃，为

细菌的分裂繁殖合成并积累充足的酶、辅酶和中间代谢产物；但分裂迟缓，繁殖极少。**迟缓期**长短不一，按菌种、接种菌的菌龄和菌量，以及营养物等不同而异，一般为 1~4 小时。

2. **对数期**（logarithmic phase）　又称**指数期**（exponential phase）。细菌在该期生长迅速，活菌数以恒定的**几何级数增长，生长曲线图上细菌数的对数呈直线上升**，达到顶峰状态。此期细菌的形态、染色性、生理活性等都较典型，对外界环境因素的作用敏感。因此，**研究细菌的生物学性状（形态染色、生化反应、药物敏感试验等）应选用该期的细菌**。一般细菌对数期在培养后的 8~18 小时。

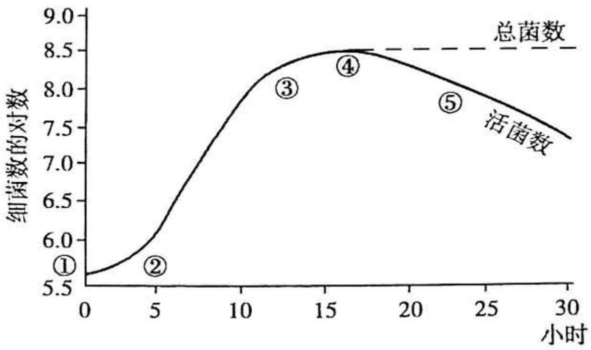


图 2-1　大肠埃希菌的生长曲线

①~②：迟缓期；②~③对数期；③~④：稳定期；④~⑤衰亡期

3. **稳定期**（stationary phase）　由于培养基中营养物质消耗，有害代谢产物积聚，该期细菌繁殖速度渐减，死亡数逐渐增加，两者大致平衡，因此该期的活菌数大致恒定，总的细菌数缓慢增加，细菌形态、染色性和生理性状常有改变。一些细菌的**芽胞**、**外毒素**和**抗生素**等代谢产物大多在**稳定期**产生。

4. **衰亡期**（decline phase）　稳定期后细菌繁殖越来越慢，死亡数越来越多，并超过活菌数。该期细菌形态显著改变，出现衰退型或菌体自溶，难以辨认；生理代谢活动也趋于停滞。因此，陈旧培养的细菌难以鉴定。

细菌生长曲线只有在体外人工培养的条件下才能观察到。在自然界或人类、动物体内繁殖时，受多种环境因素和机体免疫因素的多方面影响，不可能出现在培养基中的那种典型的生长曲线。

细菌的生长曲线在研究工作和生产实践中都有指导意义。掌握细菌生长规律，可以人为地改变培养条件，调整细菌的生长繁殖阶段，更为有效地利用对人类有益的细菌。例如在培养过程中，不断地更新培养液和对需氧菌进行通气，使细菌长时间地处于生长旺盛的对数期，这种培养称为连续培养。

第三节　细菌的新陈代谢

细菌的**新陈代谢**是指菌细胞内**分解代谢**与**合成代谢**的总和，其显著特点是代谢旺盛和代谢类型的多样化。

细菌的代谢过程以胞外酶水解外环境中的营养物质开始，产生小的单体构件分子，例如氨基酸、葡萄糖和脂肪酸等，经主动或被动转运机制进入胞质内。这些分子在一系列酶的催化作用下，经过一种或多种途径转变为共同通用的中间产物丙酮酸；再从丙酮酸进一步分解产生能量或合成新的碳水化合物、氨基酸、脂类和核酸。在上述过程中，**底物分解和转化为能量的过程称为分解代谢**；所**产生的能量和少数几种简单的前体用于细胞组分的合成称为合成代谢**；将两者紧密结合在一起称为中间代谢。伴随代谢过程细菌还将产生许多在医学上有重要意义的代谢产物。

一、细菌的能量代谢

细菌能量代谢活动中主要涉及 ATP **形式的化学能**。细菌的有机物分解或无机物氧化过程中释放的能量通过底物磷酸化或氧化磷酸化合成 ATP。

笔记

生物体能量代谢的基本生化反应是生物氧化。生物氧化的方式包括加氧、脱氢和脱电子反应，细菌则以脱氢或氢的传递更为常见。在有氧或无氧环境中，各种细菌的生物氧化过程、代谢产物和产生能量的多少均有所不同。**以有机物为受氢体的称为发酵；以无机物为受氢体的称为呼吸**，其中**以分子氧为受氢体的是需氧呼吸，以其他无机物（硝酸盐、硫酸盐等）为受氢体的是厌氧呼吸**。需氧呼吸在有氧条件下进行，厌氧呼吸和发酵必须在无氧条件下进行。大多数病原性细菌只进行需氧呼吸和发酵。

病原菌合成细胞组分和获得能量的基质（生物氧化的底物）主要为糖类，通过糖的氧化或酵解释放能量，并以高能磷酸键的形式（ADP、ATP）储存能量。现以葡萄糖为例，简述细菌的能量代谢。

1. EMP（Embden-Meyerhof-Parnas）途径 又称**糖酵解**。这是大多数细菌共有的基本代谢途径，有些专性厌氧菌产能的唯一途径。反应最终的受氢体为未彻底氧化的中间代谢产物，产生能量远比需氧呼吸少。1分子葡萄糖可生成2分子丙酮酸，产生2分子ATP和2分子$NADH+H^+$。关于丙酮酸以后的代谢随细菌的种类不同而异。

2. 磷酸戊糖途径 又称一磷酸己糖（hexose monophosphate，HMP）途径，是EMP途径的分支，由己糖生成戊糖的循环途径。其主要功能是为生物合成提供前体和还原能，反应获得的12分子（$NADPH+H^+$）可供进一步利用，产能效果仅为EMP途径的一半，所以不是产能的主要途径。

3. 需氧呼吸 1分子葡萄糖在有氧条件下彻底氧化，生成CO_2和H_2O，并产生38分子ATP。需氧呼吸中，葡萄糖经过EMP途径生成丙酮酸，后者脱羧产生乙酰辅酶A后进入三羧酸循环彻底氧化。然后将脱出的氢进入电子传递链进行氧化磷酸化，最终以分子氧作为受氢体。需氧菌和兼性厌氧菌进行需氧呼吸。

4. 厌氧呼吸 1分子葡萄糖经厌氧糖酵解只能产生2分子ATP，最终以外源的无机氧化物（CO_2、SO_4^{2-}、NO_3^-）作为受氢体的一类产能效率低的特殊呼吸。专性厌氧菌和兼性厌氧菌都能进行厌氧呼吸。

二、细菌的代谢产物

（一）分解代谢产物和细菌的生化反应

各种细菌所具有的酶不完全相同，对营养物质的分解能力亦不一致，因而其代谢产物有别。根据此特点，利用生物化学方法来鉴别不同细菌称为**细菌的生化反应试验**。常见的有：

1. 糖发酵试验 不同细菌分解糖类的能力和代谢产物不同。例如大肠埃希菌能发酵葡萄糖和乳糖；而伤寒沙门菌可发酵葡萄糖，但不能发酵乳糖。即使两种细菌均可发酵同一糖类，其结果也不尽相同，如大肠埃希菌有甲酸脱氢酶，能将葡萄糖发酵生成的甲酸进一步分解为CO_2和H_2，故产酸并产气；而伤寒沙门菌缺乏该酶，发酵葡萄糖仅产酸不产气。

2. VP（Voges-Proskauer）试验 大肠埃希菌和产气杆菌均能发酵葡萄糖，产酸产气，两者不能区别。但产气杆菌能使丙酮酸脱羧生成中性的乙酰甲基甲醇，后者在碱性溶液中被氧化生成二乙酰，二乙酰与含胍基化合物反应生成红色化合物，是为VP试验阳性。大肠埃希菌不能生成乙酰甲基甲醇，故VP试验阴性。

3. 甲基红（methyl red）试验 产气杆菌分解葡萄糖产生丙酮酸，后者经脱羧后生成中性的乙酰甲基甲醇，故最终的酸含量减少，培养液$pH > 5.4$，甲基红指示剂呈橘黄色，是为甲基红试验阴性。大肠埃希菌分解葡萄糖时，产生的丙酮酸不转变为乙酰甲基甲醇，故最终酸性较强，培养液$pH \leq 4.5$，甲基红指示剂呈红色，则为甲基红试验阳性。

4. 枸橼酸盐利用（citrate utilization）试验 当某些细菌（如产气杆菌）利用铵盐作为唯一氮源，并利用枸橼酸盐作为唯一碳源时，可在枸橼酸盐培养基上生长，分解枸橼酸盐生成碳酸盐，并分解铵盐生成氨，使培养基变为碱性，是为该试验阳性。大肠埃希菌不能利用枸橼酸盐为唯一碳

笔记

源,故在该培养基上不能生长,为枸橼酸盐试验阴性。

5. 吲哚(indol)试验 有些细菌如大肠埃希菌、变形杆菌、霍乱弧菌等能分解培养基中的色氨酸生成吲哚(靛基质),经与试剂中的对二甲基氨基苯甲醛作用,生成玫瑰吲哚而呈红色,为吲哚试验阳性。

6. 硫化氢试验 有些细菌如沙门菌、变形杆菌等能分解培养基中的含硫氨基酸(如胱氨酸、甲硫氨酸)生成硫化氢,硫化氢遇铅或铁离子生成黑色的硫化物。

7. 尿素酶试验 变形杆菌有尿素酶,能分解培养基中的尿素产生氨,使培养基变碱,以酚红为指示剂检测为红色,为尿素酶试验阳性。

细菌的生化反应用于鉴别细菌,尤其对形态、革兰染色反应和培养特性相同或相似的细菌更为重要。吲哚(I)、甲基红(M)、VP(V)、枸橼酸盐利用(C)四种试验常用于鉴定肠道杆菌,合称为 **IMViC 试验**。例如大肠埃希菌对这四种试验的结果是“++--”,产气杆菌则为“--++”。

现代临床细菌学已普遍采用微量、快速的生化鉴定方法。根据鉴定的细菌不同,选择系列生化指标,依反应的阳性或阴性选取数值,组成鉴定码,形成以细菌生化反应为基础的各种数值编码鉴定系统。更为先进的全自动细菌鉴定仪完成了细菌生化鉴定的自动化。此外,应用气相、液相色谱法鉴定细菌分解代谢产物中挥发性或非挥发性有机酸和醇类,能够快速确定细菌的种类。

(二) 合成代谢产物及其医学上的意义

细菌利用分解代谢中的产物和能量不断合成菌体自身成分,如细胞壁、多糖、蛋白质、脂肪酸、核酸等,同时还合成一些在医学上具有重要意义的代谢产物。

1. 热原质(pyrogen) 或称致热原,是细菌合成的一种注入人体或动物体内能引起发热反应的物质,称为**热原质**。产生热原质的细菌大多是**革兰阴性菌**,热原质即其细胞壁的**脂多糖**。

热原质耐高温,压力蒸汽灭菌(121℃、20 分钟)亦不被破坏,250℃高温干烤才能破坏热原质。用吸附剂和特殊石棉滤板可除去液体中大部分热原质,蒸馏法效果最好。因此,在制备和使用注射药品过程中应严格遵守无菌操作,防止细菌污染。

2. 毒素与侵袭性酶 细菌产生外毒素和内毒素两类毒素,在细菌致病作用中甚为重要。**外毒素**(exotoxin)是多数革兰阳性菌和少数革兰阴性菌在生长繁殖过程中释放到菌体外的蛋白质;**内毒素**(endotoxin)是革兰阴性菌细胞壁的脂多糖,当菌体死亡崩解后游离出来。外毒素毒性强于内毒素。

某些细菌可产生具有**侵袭性的酶**,能损伤机体组织,促使细菌的侵袭和扩散,是细菌重要的致病物质。如产气荚膜梭菌的卵磷脂酶、链球菌的透明质酸酶等。

3. 色素 某些细菌能产生不同颜色的色素,有助于鉴别细菌。细菌的色素有两类,一类为**水溶性**,能弥散到培养基或周围组织,如铜绿假单胞菌产生的色素使培养基或感染的脓汁呈绿色。另一类为**脂溶性**,不溶于水,只存在于菌体,使菌落显色而培养基颜色不变,如金黄色葡萄球菌的色素。细菌色素产生需要一定的条件,如营养丰富、氧气充足、温度适宜。细菌色素不能进行光合作用,其功能尚不清楚。

4. 抗生素 某些微生物代谢过程中产生的一类能抑制或杀死某些其他微生物或肿瘤细胞的物质,称为抗生素(antibiotic)。抗生素大多由放线菌和真菌产生,细菌产生的少,只有多粘菌素(polymyxin)、杆菌肽(bacitracin)等。

5. 细菌素 某些菌株产生的一类具有抗菌作用的蛋白质称为**细菌素**(bacteriocin)。细菌素与抗生素不同的是作用范围狭窄,仅对与产生菌有亲缘关系的细菌有杀伤作用。例如大肠埃希菌产生的细菌素称**大肠菌素**(colicin),其编码基因位于 Col 质粒上。细菌素在治疗上的应用价值已不被重视,但可用于细菌分型和流行病学调查。

6. 维生素 细菌能合成某些维生素除供自身需要外,还能分泌至周围环境中。例如人体肠

笔记

道内的大肠埃希菌，合成的B族维生素和维生素K也可被人体吸收利用。

第四节 细菌的人工培养

了解细菌的生理需要，掌握细菌生长繁殖的规律，可用人工方法提供细菌所需要的条件来培养细菌，以满足不同的需求。

一、培养细菌的方法

人工培养细菌，首先要选择合适的培养基以提供**充足的营养物质**、合适的**酸碱度及渗透压，此外，还要有适宜的温度和必要的气体等**。已接种标本或细菌的培养基置于合适的气体环境，需氧菌和兼性厌氧菌置于空气中即可，专性厌氧菌须在无游离氧的环境中培养。多数细菌在代谢过程中需要CO_2，但分解糖类时产生的CO_2已足够其所需，且空气中还有微量CO_2，不必额外补充。只有少数菌如布鲁氏菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌等，初次分离培养时必须在5%~10% CO_2环境中才能生长。

病原菌的人工培养一般采用35~37℃，培养时间多数为18~24小时，但有时需根据菌种及培养目的做最佳选择，如细菌的药物敏感试验则应选用对数期的培养物。

根据不同标本及不同培养目的，可选用不同的接种和培养方法。常用的有细菌的**分离培养**和**纯培养**两种方法。

将标本或培养物划线接种在固体培养基的表面，因划线的分散作用，使许多原混杂的细菌在固体培养基表面上散开，称为**分离培养**。一般经过18~24小时培养后，**单个细菌分裂繁殖成一堆肉眼可见的细菌集团，称为菌落**(colony)。

挑取一个菌落，移种到另一个培养基中，可生长出来的大量的纯种细菌，称为**纯培养**(pure culture)。多用于某些菌种的扩增。

此外，在医药等工业中使用**发酵培养**：在适宜的条件下，发酵罐中大量培养微生物(细菌、真菌等)细胞和生产代谢产物的工艺过程。发酵培养分两步，种子培养和发酵罐培养。种子培养目的在于扩大培养，增加细菌的数量同时培养出活性高的细胞，使细胞迅速进行分裂或菌丝快速生长，有利于在发酵罐中产生更多的所需产物。通过发酵培养可制成许多食品、酶制剂和医药用品(其中包括传统的发酵产品和基因工程的发酵产品)。

二、培 养 基

培养基(culture medium)是由人工方法配制而成的，专供微生物生长繁殖使用的混合营养物制品。培养基一般pH为7.2~7.6，少数的细菌按生长要求调整pH偏酸或偏碱。许多细菌在代谢过程中分解糖类产酸，故常在培养基中加入缓冲剂，以保持稳定的pH。培养基制成后必须经灭菌处理。

培养基按其营养组成和用途不同，分为以下几类：

1. **基础培养基** **基础培养基**(basic medium)含有多数细菌生长繁殖所需的基本营养成分。它是配制特殊培养基的基础，也可作为一般培养基用。如**营养肉汤**(nutrient broth)、**营养琼脂**(nutrient agar)、**蛋白胨水**等。

2. **增菌培养基** 若了解某种细菌的特殊营养要求，可配制出适合这种细菌而不适合其他细菌生长的**增菌培养基**(enrichment medium)。在这种培养基上生长的是营养要求相同的细菌群。它包括通用增菌培养基和专用增菌培养基，前者为基础培养基中添加合适的生长因子或微量元素等，以促使某些特殊细菌生长繁殖，例如链球菌、肺炎链球菌需在含血液或血清的培养基中生长；后者又称为选择性增菌培养基，即除固有的营养成分外，再添加特殊抑制剂，有利于目的菌

笔记

的生长繁殖，如碱性蛋白胨水用于霍乱弧菌的增菌培养。

3. **选择培养基**　在培养基中加入某种**化学物质**，使之抑制某些细菌生长，而有利于另一些细菌生长，从而将后者从混杂的标本中分离出来，这种培养基称为**选择培养基**（selective medium）。例如培养肠道致病菌的SS琼脂，其中的胆盐能抑制革兰阳性菌，枸橼酸钠和煌绿能抑制大肠埃希菌，因而使致病的沙门菌和志贺菌容易分离到。若在培养基中加入抗生素，也可起到选择作用。实际上有些选择培养基、增菌培养基之间的界限并不十分严格。

4. **鉴别培养基**　用于培养和区分不同细菌种类的培养基称为**鉴别培养基**（differential medium）。利用各种细菌分解糖类和蛋白质的能力及其代谢产物不同，在培养基中加入特定的作用**底物和指示剂**，一般不加抑菌剂，观察细菌在其中生长后对底物的作用如何，从而鉴别细菌。如常用的糖发酵管、三糖铁培养基、伊红－亚甲蓝琼脂等。也有一些培养基将选择和鉴别功能结合在一起，在选择的同时，起一定的鉴别作用，如SS琼脂，其中所加的底物乳糖和指示剂中性红就起到鉴别作用。

5. **厌氧培养基**　专供厌氧菌的分离、培养和鉴别用的培养基，称为**厌氧培养基**（anaerobic medium）。这种培养基营养成分丰富，含有特殊生长因子，氧化还原电势低，并加入亚甲蓝作为氧化还原指示剂。其中心、脑浸液和肝块、肉渣含有不饱和脂肪酸，能吸收培养基中的氧；硫乙醇酸盐和半胱氨酸是较强的还原剂；维生素K_1、氯化血红素可以促进某些类杆菌的生长。常用的有庖肉培养基（cooked meat medium）、硫乙醇酸盐肉汤等，并在液体培养基表面加入凡士林或液状石蜡以隔绝空气。

此外，还可根据对培养基成分了解的程度将其分为两大类：化学成分确定的培养基（defined medium），又称为合成培养基（synthetic medium）；化学成分不确定的培养基（undefined medium），又称天然培养基（complex medium）。也可根据培养基的物理状态的不同分为**液体、固体和半固体培养基**三大类。在液体培养基中加入15g/L的**琼脂粉**，即凝固成固体培养基；琼脂粉含量在3~5g/L时，则为半固体培养基。琼脂在培养基中起赋形剂作用，不具营养意义。液体培养基可用于大量繁殖细菌，但必须种入纯种细菌；固体培养基常用于细菌的分离和纯化；半固体培养基则用于观察细菌的动力和短期保存细菌。

三、细菌在培养基中的生长情况

(一) 在液体培养基中生长情况

大多数细菌在液体培养基生长繁殖后呈现**均匀混浊状态**；少数**链状的细菌**则呈**沉淀生长**；枯草芽胞杆菌、结核分枝杆菌等专性需氧菌呈**表面生长**，常形成**菌膜**。

(二) 在固体培养基中生长情况

通过分离培养，细菌可在固体培养基上形成菌落，分离培养是检查、鉴定细菌很重要的第一步。各种细菌在固体培养基上形成的菌落，在大小、形状、颜色、气味、透明度、表面光滑或粗糙、湿润或干燥、边缘整齐与否，以及在血琼脂平板上的溶血情况等均有不同表现，这些有助于识别和鉴定细菌。此外，取一定量的液体标本或培养液均匀接种于琼脂平板上，可计数菌落，推算标本中的活菌数。这种**菌落计数法**常用于检测自来水、饮料、污水和临床标本的活菌含量。

细菌的菌落一般分为三型：

1. **光滑型菌落**（smooth colony，S型菌落）　新分离的细菌大多呈光滑型菌落，表面光滑、湿润、边缘整齐。

2. **粗糙型菌落**（rough colony，R型菌落）　菌落表面粗糙、干燥、呈皱纹或颗粒状，边缘大多不整齐。R型细菌多由S型细菌变异失去菌体表面多糖或蛋白质形成。R型细菌抗原不完整，毒力和抗吞噬能力都比S型菌弱。但也有少数细菌新分离的毒力株就是R型，如炭疽芽胞杆菌、结核分枝杆菌等。

笔记

3. **黏液型菌落**(mucoid colony,M 型菌落) 黏稠、有光泽,似水珠样。多见于有厚荚膜或丰富黏液层的细菌,如肺炎克雷伯菌等。

(三) 在半固体培养基中生长情况

半固体培养基黏度低,**有鞭毛的细菌**在其中仍可自由游动,沿穿刺线呈羽毛状或云雾状混浊生长。**无鞭毛细菌**只能沿穿刺线呈明显的线状生长。

四、人工培养细菌的用途

1. **在医学中的应用** 细菌培养对疾病的诊断、预防、治疗和科学研究都具有重要的作用。

(1) 感染性疾病的病原学诊断:明确感染性疾病的病原菌必须取患者有关标本进行细菌分离培养、鉴定和药物敏感试验,其结果可指导临床用药。

(2) 细菌学的研究:有关细菌生理、遗传变异、致病性和耐药性等研究都离不开细菌的培养和菌种的保存等。

(3) 生物制品的制备:供防治用的疫苗、类毒素、抗毒素、免疫血清及供诊断用的菌液、抗血清等均来自培养的细菌或其代谢产物。

2. **在工农业生产中的应用** 细菌培养和发酵过程中多种代谢产物在工农业生产中有广泛用途,可制成抗生素、维生素、氨基酸、有机溶剂、酒、酱油、味精等产品。细菌培养物还可生产酶制剂,处理废水和垃圾,制造菌肥和农药等。

3. **在基因工程中的应用** 将带有外源性基因的重组 DNA 转化给受体菌,使其在菌体内能获得表达。细菌操作方便,容易培养,繁殖快,基因表达产物易于提取纯化,故可以大大地降低成本。如应用基因工程技术已成功地制备了胰岛素、干扰素、乙型肝炎疫苗等。

第五节 抑制或杀灭微生物的理化因素

细菌为单细胞生物,极易受外界环境中各种因素的影响。环境适宜时,生长繁殖;若环境条件不适宜或剧烈变化时,细菌可发生代谢障碍,使生长受到抑制,甚至死亡。有关适宜于细菌生长的环境因素已在本章第二节描述,本节主要讨论的是抑制或杀死微生物的物理和化学因素。利用理化因素对微生物的影响进行消毒灭菌,以抑制或杀死外环境中及机体体表的微生物,是防止微生物污染或病原微生物传播的重要措施。如为有效防止酒类发酵变酸,巴斯德采用加温处理的方法杀死污染微生物;在此启发下,英国外科医生李斯特使用苯酚消毒空气、手术器械、洗手等措施,显著降低了医院交叉感染和死亡率,创建了医院消毒灭菌和无菌操作的方法。消毒灭菌在医学生物科学、工农业生产和日常生活中有着广泛的应用。

一、消毒灭菌的常用术语

以下术语常用来表示物理或化学方法对微生物的杀灭程度:

1. **灭菌**(sterilization) 杀灭物体上所有微生物的方法,包括杀灭细菌芽胞、病毒和真菌等在内的全部病原微生物和非病原微生物。经过灭菌的物品称"无菌物品"。凡需要进入人体内部,包括进入血液、组织、体腔的医用器材,如手术器械、注射用具、一切置入体腔的引流管等,都要求绝对无菌。在实验室,培养基和相关的试剂、器材也需要灭菌。

2. **消毒**(disinfection) 杀死物体上或环境中的病原微生物并不一定能杀死细菌芽胞或非病原微生物的方法。用以消毒的化学药品称为**消毒剂**(disinfectant)。一般消毒剂在常用的浓度下,只对细菌的繁殖体有效,对细菌芽胞无效 。

3. **防腐**(antisepsis) 防止或抑制微生物生长繁殖的方法。细菌一般不死亡。防腐剂的选择要安全和有效。常用的有醇类、碘伏、氯已定等。

笔记

4. 清洁(cleaning)　是指通过除去尘埃和一切污秽以减少微生物数量的过程。除广泛应用于医院环境外，也是物品消毒、灭菌前必须经过的处理过程，有利于提高消毒、灭菌的效果。

5. 无菌(asepsis)**和无菌操作**　无菌是不存在活菌的意思，多是灭菌的结果。防止微生物进入人体或其他物品的操作技术，称为无菌操作。例如进行外科手术时需防止细菌进入创口，微生物学实验中要注意防止污染和感染。

二、物理消毒灭菌法

物理消毒灭菌的因素有**热力**、**辐射**、**滤过**、干燥和低温等。

(一) 热力灭菌法

高温对细菌具有明显的致死作用，因此最常用于消毒和灭菌。多数无芽胞细菌经 55~60℃作用 30~60 分钟后死亡。湿热 80℃经 5~10 分钟可杀死绝大部分细菌繁殖体和真菌。细菌芽胞对高温有很强的抵抗力，例如炭疽芽胞杆菌的芽胞，可耐受 5~10 分钟煮沸，肉毒梭菌的芽胞则需煮沸 3~5 小时才死亡。

热力灭菌法分为**干热灭菌**和**湿热灭菌**两大类，在同一温度下，后者的效力比前者大。

1. 干热灭菌法　干热的杀菌作用是通过脱水、干燥和大分子变性实现的。一般细菌繁殖体在干燥状态下，80~100℃经 1 小时可被杀死；芽胞则需要更高温度才死亡。

(1) 焚烧：直接点燃或在焚烧炉内焚烧，是一种彻底的灭菌方法。适用于病理性废弃物品或动物尸体等。

(2) 烧灼：直接用火焰灭菌，适用于微生物学实验室的接种环、试管口等。

(3) 干烤：利用干烤箱灭菌，一般加热至 171℃经 1 小时或 160℃ 2 小时或 121℃ 16 小时。适用于高温下不变质、不损坏、不蒸发的物品，例如玻璃器皿、瓷器、玻璃注射器等的灭菌。

(4) 红外线(infrared)：是一种 0.77~1 000μm 波长的电磁波，尤以 1~10μm 波长的热效应最强。但热效应只能在照射到的表面产生，因此不能使物体均匀加热。红外线的灭菌作用与干热相似，利用红外线烤箱灭菌所需的温度和时间亦同于干烤。此法多用于医疗器械和食具的消毒与灭菌。

2. 湿热灭菌法　最常用，在同一温度下，比干热灭菌方法效果好。其原因是：①湿热中细菌菌体蛋白较易凝固变性；②湿热的穿透力比干热大；③湿热的蒸汽有潜热效应存在，水由气态变为液态时放出大量的潜热，可迅速提高被灭菌物体的温度。

(1) **巴氏消毒法**(pasteurization)：用较低温度杀灭液体中的病原菌或特定微生物，以保持物品中所需的不耐热成分不被破坏的消毒方法。此法由巴斯德创建，用于消毒牛乳、酒类。方法有两种：一种是加热至 61.1~62.8℃ 30 分钟；另一种是 71.7℃经 15~30 秒，现广泛采用后一种方法。

(2) 煮沸法：在 1 个大气压下水的煮沸温度为 100℃，一般细菌的繁殖体 5 分钟能被杀死，细菌芽胞需要煮沸 1~2 小时才被杀灭。此法常用于消毒食具、刀剪、注射器等。水中加入 2% 碳酸氢钠，既可提高沸点达 105℃，促进细菌芽胞的杀灭，又可防止金属器皿生锈。海拔高度影响水的沸点，高海拔用此方法消毒时，可按海拔每升高 300m，延长消毒时间 2 分钟的标准来计算。

(3) 流动蒸汽消毒法：又称常压蒸汽消毒法，是利用 1 个大气压下 100℃的水蒸气进行消毒。细菌繁殖体 15~30 分钟可被杀灭，常不能杀灭全部细菌芽胞。该法常用的器具是 Arnold 消毒器，我国的蒸笼具有相同的原理。

(4) **间歇蒸汽灭菌法**(fractional sterilization)：利用反复多次的流动蒸汽间歇加热以达到灭菌的目的。将需要灭菌的物品置于流通蒸汽灭菌器内，100℃加热 15~30 分钟，杀死其中的繁殖体。取出后放 37℃孵箱过夜，使残存的芽胞发育成繁殖体，次日再蒸一次。如此连续三次以上，可达到灭菌的效果。此法适用于一些不耐高热的含糖、牛奶等培养基。若有些物质不耐 100℃，则可

笔记

将温度减低至75~80℃，每次加热时间延长至30~60分钟，次数增加至3次以上，也可达到灭菌目的。

（5）**压力蒸汽灭菌法**（sterilization by pressured steam）：是一种灭菌效果最好的方法。**压力蒸汽灭菌器**（autoclave）是一个密闭、耐高压蒸锅。灭菌的温度取决于蒸汽的压力，在101.325kPa（1个大气压）下，蒸汽的温度是100℃。如果蒸汽被限制在密闭的容器中，随着压力升高，蒸汽的温度也相应升高。在超过标准大气压103.4kPa（$1.05kg/cm^2$）蒸汽压下，温度达到121.3℃，维持15~20分钟，可杀灭包括细菌芽胞在内的所有微生物。压力蒸汽灭菌器就是根据这一原理制成的，常用于一般培养基、生理盐水、手术敷料等耐高温、耐湿物品的灭菌。但上述温度尚不足以灭活朊粒。

由于压力蒸汽灭菌所需时间较长，近年来，在此基础上又研发了一种新型的预真空压力蒸汽灭菌器。即先将灭菌器内空气抽出约98%，再送入蒸汽，灭菌时间只需3~4分钟，特别适用于周转快的物品。

（二）辐射杀菌法

1. 紫外线 波长240~300nm的紫外线（ultraviolet ray，UV）具有杀菌作用（包括日光中的紫外线），其中以265~266nm最强，这与DNA的吸收光谱范围一致。紫外线主要作用于DNA，使一条DNA链上两个相邻的胸腺嘧啶以共价键结合，形成二聚体，干扰DNA的复制与转录，导致细菌的变异或死亡。紫外线穿透力较弱，可被普通玻璃、纸张、尘埃、水蒸气等阻挡，故一般用于手术室、传染病房、无菌实验室的空气消毒，或用于不耐热物品的表面消毒。杀菌波长的紫外线对人体皮肤、眼睛有损伤作用，使用时应注意防护。

2. 电离辐射 主要包括**β射线和γ射线**等。β射线可由电子加速器产生，其穿透性差，但作用时间短，安全性好；γ射线多用^{60}Co为放射源，其穿透性强，但作用时间慢，安全措施要求高。电离射线具有较高的能量，在足够剂量时，对各种细菌均有致死作用。其机制是干扰DNA合成、破坏细胞膜、引起酶系统紊乱及水分子经辐射后产生的游离基和新分子，如过氧化氢等。电离辐射常用于大量的一次性医用塑料制品的消毒；亦可用于食品、药品和生物制品的消毒灭菌，而不破坏其营养成分。

3. 微波（microwave） 微波是波长为1~1000mm的电磁波，可穿透玻璃、陶瓷和薄塑料等物质，但不能穿透金属表面。主要用于食品、非金属器械、检验室用品、食品用具、药杯等消毒。微波主要靠热效应发挥作用，微波通过介质时，使极性分子快速运动，摩擦生热，里外温度同时上升。但微波的热效应必须在有一定含水量的条件下才能显示出来，在干燥条件下，即使再延长消毒时间也不能达到有效灭菌。

（三）滤过除菌法

滤过除菌法（filtration）是用物理阻留的方法除去液体或空气中的细菌、真菌，以达到无菌目的，但不能除去病毒和支原体。

液体除菌所用的器具是**滤菌器**（filter），滤菌器含有微细小孔，只允许液体通过，而大于孔径的细菌、真菌等颗粒不能通过。滤过法主要用于一些不耐高温的血清、毒素、抗生素的除菌。滤菌器的种类很多，目前常用的有薄膜滤菌器，由硝基纤维素膜制成，依孔径大小分为多种规格，用于除菌的滤膜孔径在0.45μm以下，最小为0.1μm。此外还有玻璃滤菌器、石棉滤菌器、素陶瓷滤菌器等。

空气除菌采用**生物洁净技术**，通过初、中、高三级高效分子空气过滤器[high-efficiency particulate air（HEPA）filters]，除掉空气中0.5~5μm的尘埃微粒，并采用合理的气流方式来达到空气洁净的目的。微生物通常附着在尘埃上，在一定意义上讲，滤过了空气中的尘埃，也就清除了细菌等微生物。

笔记

初级过滤采用塑料泡沫海绵，过滤率在50%以下；中效过滤用无纺布，过滤率在50%~90%

之间；高效或亚高效过滤用超细玻璃滤纸，过滤率为99.95%~99.99%。这种经高度净化的空气形成一种细薄的气流，以均匀的速度向同一方向输送，均匀分布于室内，不产生涡流，聚集尘埃，通过回风口把它带出房间。空气持续向外流通，使室内维持正压，可防止相邻房间的细菌侵入，称为层流空气。

凡在送风系统上装有高效或亚高效过滤系统的房间，一般统称为生物洁净室。生物洁净室在医院里可用作无菌护理室和无菌手术室。

（四）干燥与低温抑菌法

有些细菌的繁殖体在空气中干燥时会很快死亡，例如脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、霍乱弧菌、苍白密螺旋体等。但有些细菌的抗干燥力较强，如溶血性链球菌在尘埃中可存活25天，结核分枝杆菌在干痰中数月不死。细菌芽胞的抵抗力更强，如炭疽芽胞杆菌的芽胞耐干燥20余年。干燥法常用于保存食物，浓盐或糖渍食品可使细菌体内水分逸出，造成生理性干燥，使细菌的生命活动停止，从而防止食物变质。

低温可使细菌的新陈代谢减慢，故常用作保存细菌菌种。当温度回升至适宜范围时，又能恢复生长繁殖。为避免解冻时对细菌的损伤，可在低温状态下真空抽去水分，此方法称为**冷冻真空干燥法**(lyophilization)。该法是目前保存菌种的最好方法，一般可保存微生物数年至数十年。

三、化学消毒灭菌法

化学消毒灭菌法是使用化学消毒剂，其原理是：①促进菌体蛋白质变性或凝固；②干扰细菌的酶系统和代谢；③损伤细菌的细胞膜而影响细菌的化学组成、物理结构和生理活动，从而发挥防腐、消毒甚至灭菌的作用。化学消毒剂一般都对人体组织有害，只能外用或用于环境的消毒（表2-1）。需要强调的是，化学消毒剂的应用要适度、适量和消毒时间不能过长。要注意消毒剂对人类的毒副作用、对环境的污染作用和对物体的腐蚀作用。使之既达到消毒目的，又不造成对环境污染和对人类健康的损害。

表2-1 常用消毒剂的使用范围、剂量和作用时间

消毒剂	使用范围	剂量	作用时间
含氯消毒剂			
漂白粉	饮水消毒	加有效氯量0.4%	≥30分钟
次氯酸钠、二氯异氰酸尿酸钠	皮肤、物品表面、排泄物、污水	溶液有效氯含量0.01%~0.1%	10~30分钟
过氧乙酸	皮肤、物品表面、空气	0.1%~0.5%	10~30分钟
过氧化氢	皮肤、物品表面、空气	3%	30分钟
戊二醛	医疗器械	2%	≥4小时
乙醇	医疗器材、皮肤	70%~75%	5~10分钟
碘酊	皮肤、黏膜、物品表面	2%碘(用75%乙醇溶液配制)	1~10分钟
碘伏	皮肤、黏膜、物品表面	0.3%~0.5%有效碘溶液	10~30分钟
苯扎溴铵(新洁尔灭)	皮肤、黏膜、物品表面	0.05%~0.1%溶液	10~30分钟
氯己定(洗必泰)	皮肤、黏膜、物品表面	0.02%~0.05%	10~30分钟
高锰酸钾	皮肤、黏膜、食(饮)具、蔬菜、水果	0.1%	10~30分钟

化学消毒剂按其杀菌能力可分为三大类：

1. **高效消毒剂**(high-level disinfectants) 可杀灭包括细菌芽胞在内的所有微生物。适用于不能耐受热力灭菌，但要进入人体内部的物品，如内镜、塑料外科器材等的消毒。

笔记

(1) 含氯消毒剂(chlorine compounds):其有效成分按有效氯含量计算。有效氯含量指某含氯消毒剂所含有的与其氧化能力相当的氯量和消毒剂总量的比值。一般以百分比或 mg/L 表示。我国常用的有**次氯酸钠**、**二氯异氰酸尿酸钠**和**漂白粉**等。这类制剂在水中可产生氯(Cl_2)、次氯酸(HClO)及新生态氧 [O],三者均具有强大的杀菌作用,氯可氧化细菌 – SH 基,次氯酸盐可与胞质成分作用形成氮 – 氯复合物,干扰细胞代谢,且杀菌谱广,作用快,可用于物品表面、饮用水、皮肤、地面、排泄物和污水等消毒。但对金属制品有腐蚀作用。

(2) 过氧化物消毒剂:常用的有**过氧化氢**(hydrogen peroxide)和**过氧乙酸**(peracetic acid)。二者主要靠其强大的氧化能力来灭菌,可使酶蛋白中的 – SH 基转变为 – SS – 基,导致酶活性的丧失。3%~6% 的过氧化氢可杀死大多数细菌,10%~25% 浓度时可杀死所有微生物,包括细菌芽胞。过氧化氢熏蒸还可用于空气消毒。目前利用过氧化氢蒸气的等离子无菌技术正在发展,可能会替代环氧乙烷灭菌技术而成为医疗器械灭菌的发展方向。过氧乙酸为强氧化剂,易溶于水,杀菌谱广,杀菌力强,无残留毒性,但稳定性差,并有刺激性与腐蚀性,不适用于金属器具等的消毒。可用于物品表面和皮肤消毒。

二氧化氯(chlorine dioxide)消毒剂亦靠其强大的氧化能力来灭菌,二氧化氯在水中溶解饱和后,即可以气态向空中自然逸散,当空气中有效浓度达到 $4mg/m^3$,即可杀死 99.99% 的细菌、病毒和真菌,是当前新型的安全无毒、广谱高效的空气消毒净化剂。

(3) 醛类消毒剂:常用的有**戊二醛**(glutaraldehyde)和**甲醛**(formaldehyde),为烷化剂。具有广谱、高效、快速的杀菌作用。其杀菌机制是对细菌蛋白质和核酸的烷化作用。2% 碱性戊二醛对橡胶、塑料、金属器械等物品无腐蚀性,适用于精密仪器、内镜的消毒。但对皮肤黏膜有刺激性。由于甲醛对人有潜在毒性作用,其使用有限,主要用于 HEPA 滤器的消毒。

(4) **环氧乙烷**(ethylene oxide):为杂环类化合物,沸点为 10.8℃,易蒸发,多用为气体消毒剂。其杀菌机制与甲醛相同,但其作用受气体浓度、消毒温度和湿度的影响。其优点为有穿透力,杀菌广谱高效,杀灭芽胞能力强,对多数物品无损害作用。不足之处为易燃,对人有一定毒性。其在空气中的浓度不得超过 1ppm。灭菌后物品中残留的环氧乙烷应挥发至规定的安全浓度方可使用。现已有特制的环氧乙烷灭菌箱,能控制真空度、温度和湿度,消毒后可用无菌空气进行洗涤,使用安全方便。常用灭菌要求是浓度 800~1200mg/L;相对湿度 55%~60%;50℃;6 小时。

2. 中效消毒剂(intermediate-level disinfectants) 不能杀灭细菌芽胞,但能杀灭细菌繁殖体(包括结核分枝杆菌)、真菌和大多数病毒。适用于纤维内镜、喉镜、阴道窥器、麻醉器材等。

(1) 含碘消毒剂:常用为**碘酊**(tincture of iodine)和**碘伏**(povidone iodine)。杀菌作用主要依靠其沉淀蛋白和强大的氧化能力。碘酊为碘的乙醇溶液;碘伏为碘与载体的结合物(常为聚维酮碘)。多用于皮肤黏膜、体温计以及其他物品表面的消毒。碘酊对皮肤有刺激性,消毒后需以 75% 乙醇将其擦净;碘伏着色易洗脱,刺激性较轻微。

(2) 醇类消毒剂:醇类的杀菌活性随碳链的长度增加而增加(最高活性见于 5~8 个碳原子)。**乙醇**(alcohols)或**异丙醇**最为常用,可迅速杀死细菌繁殖体、结核分枝杆菌、某些真菌和有包膜病毒。杀菌机制在于去除细菌胞膜中的脂类,并使菌体蛋白质变性。乙醇浓度为 70% ~75%时杀菌力最强。异丙醇的杀菌作用比乙醇强,且挥发性低,但毒性较高。一般多用于医疗护理器材、皮肤的消毒和浸泡体温计。

3. 低效消毒剂(low-level disinfectants) 可杀灭多数细菌繁殖体,但不能杀灭细菌芽胞、结核分枝杆菌及某些抵抗力较强的真菌和病毒。

(1) 季铵盐类消毒剂(quaternary ammonium compounds):我国使用最普遍的是**苯扎溴铵**(benzalkonium chloride,商品名为新洁尔灭)。其溶液无色、无臭、刺激性轻微。属阳离子表面活性剂,能吸附于细菌表面,改变胞壁通透性,使菌体内的酶、辅酶、代谢中间产物逸出,呈现

笔记

杀菌作用。表面活性剂又称去垢剂，易溶于水，能减低液体的表面张力，使物品表面油脂乳化易于除去，故具有清洁作用。表面活性剂有阳离子型、阴离子型和非离子型三类。因细菌带阴电，故阳离子型杀菌作用较强，但不得与阴离子表面活性剂(如肥皂)合用。可用于皮肤、黏膜、物品表面、地面消毒。

(2) **氯己定**(chlorhexidine，商品名为洗必泰)：为双胍类化合物。其溶液无色、无臭、刺激性轻微。不宜与阴离子表面活性剂合用。可用于皮肤、黏膜、物品表面、地面消毒。

(3) **高锰酸钾**：具有氧化杀菌作用，多用于皮肤、黏膜冲洗、浸泡消毒以及食(饮)具、蔬菜、水果的消毒。

四、消毒灭菌的运用

消毒灭菌在实验微生物学和医学实践中有重要运用，应针对不同微生物污染的对象，选用不同的消毒灭菌方法。

(一) 医疗器械物品的消毒灭菌

1. 高危器械物品　指使用时需进入无菌组织的物品，如针头、注射器、手术器械、注射液体、敷料、静脉导管和尿道插管等。所有这些物品都应该灭菌，最好应用压力蒸汽灭菌法灭菌。对于不能耐受热力灭菌的物品，可使用高效消毒剂，如环氧乙烷、戊二醛等。

2. 中危器械物品　指使用时不进入无菌组织，但需接触黏膜的器械，如呼吸机、麻醉机、胃镜、支气管镜、阴道窥器、体温计和口腔器械等。这些器械采用消毒即可，包括流动蒸汽、煮沸、过氧乙酸、醇类和戊二醛浸泡，但浸泡的物品，用前必须彻底清洗，以免超敏反应等副作用。如果器械性能允许，最好用压力蒸汽灭菌或 ^{60}Co 电离辐射消毒。

3. 低危器械物品　指只接触未损伤的皮肤，不进入无菌组织和不接触黏膜的物品，如治疗盘、治疗车、食品器皿、便盆等。对这些物品一般用后清洗、消毒处理即可。

4. 快速周转的医疗器械　对医疗工作中快速周转的关键和半关键性器材，如纤维内镜、牙钻、牙科手术器械等的消毒灭菌既要时间短，又不能损伤器材，难度较大。目前常用瞬时灭菌、微波灭菌、高效消毒剂快速处理、中效或低效消毒剂与低热(60℃)协同等方法。

(二) 室内空气消毒灭菌

1. 物理消毒法　①紫外线照射($1.5W/m^3$，1 小时)是最常用的方法，但必须在无人状态下才能进行，且紫外线消毒有死角，不彻底，产生的臭氧不仅气味难闻，且超过一定浓度后，可导致胸闷、憋气、头痛、肺水肿甚至窒息等严重毒性副作用；②滤过除菌是将空气气流通过孔径小于 0.2μm 的高效过滤装置以除去细菌和带菌尘埃。

2. 化学消毒法　包括使用化学消毒剂喷雾和熏蒸。①过氧乙酸喷雾可用 0.5% 水溶液，剂量为 $30ml/m^3$，喷后密闭 1 小时；熏蒸按 $0.75\sim1g/m^3$ 计算，熏蒸 2 小时。②过氧化氢可用 3% 溶液喷雾，$30ml/m^3$，1 小时。③二氧化氯溶液，见前述。④中草药如用艾叶($1g/m^3$)点燃烟熏可有效抑制金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、白喉棒状杆菌、肺炎链球菌等。

(三) 手和皮肤的消毒

人体手上的细菌可分为**暂住菌**和**常住菌**两大类，暂住菌是原来不存在，经接触而附着在皮肤上，与宿主皮肤结合不紧密，易用机械方法清洁或化学方法清除；常住菌为皮肤上定植的正常菌群，常寄居在皮肤毛囊和皮脂腺开口处，藏身于皮肤缝隙深处，大部分无致病性。

流行病学调查资料显示，医护人员手上的污染菌主要是暂住菌，如不认真进行清洁和消毒，则可通过医疗、护理等工作直接或间接传播病原体，造成交叉感染。由医护人员的手传播细菌而造成的医院感染约占 30%。

用肥皂和流动水经常并正确的洗手是预防许多病原微生物感染的有效方法，当被病原微生物污染时，一般常用的消毒剂包括 75% 乙醇、0.05% 氯己定溶液、0.2% 过氧乙酸水溶液、

笔记

0.05%~0.1% 次氯酸钠水溶液、含有有效碘 10g/L 的碘伏配制液及其他配制并辅以皮肤保护剂的各种新型混合制剂。

(四) 黏膜的消毒

口腔黏膜消毒可用 3% 过氧化氢;冲洗尿道、阴道、膀胱等可用 0.05% 氯己定或 1g/L 高锰酸钾。

(五) 患者排泄物与分泌物的消毒灭菌

患者的粪、尿、脓液和痰液等,一般多用含 50g/L 有效氯的次氯酸钠、漂白粉等消毒液作用 1 小时,也可用等量的 200g/L 漂白粉搅拌均匀,作用 2 小时后再处理。

(六) 患者污染物品的消毒

日常生活小用具可煮沸 15~30 分钟或流通蒸汽消毒 30 分钟。也可用 0.5% 过氧乙酸浸泡 30 分钟。家具用 0.2%~0.5% 过氧乙酸擦洗、喷洒。污染的食品、果品禁止再食用,可用 200g/L 漂白粉乳剂处理 2 小时或煮沸 30 分钟或焚烧。衣服、被褥用流通蒸汽消毒 30 分钟或用含有 5% 有效氯的消毒液作用 30 分钟或 15% 过氧乙酸 $1g/m^3$ 熏蒸 1 小时。运输工具用 0.5% 过氧乙酸擦洗、喷洒表面或 2% 过氧乙酸 $8ml/m^3$ 熏蒸 1 小时。

(七) 饮水的消毒

自来水用氯气,少量的饮用水可用漂白粉。

(八) 环境的消毒

患者居住过的房间、地面、墙壁、门窗可用 0.2~0.5% 过氧乙酸 $200ml/m^2$ 30~60 分钟或 1g/L 含氯消毒液 30~60 分钟于房间无人时喷洒,注意药物的腐蚀性。厕所、阴沟可用生石灰,其有效成分是氢氧化钙。垃圾可焚烧或用 10g/L 有效氯的消毒液喷洒。污水可用有效氯消毒(总余氯量大于 65mg/L)处理。

五、影响消毒灭菌效果的因素

(一) 微生物的种类

微生物对消毒灭菌的敏感性高低排序大致如下:真菌、细菌繁殖体、有包膜病毒、无包膜病毒、分枝杆菌、细菌芽胞。然而,不同种或同种不同株间微生物内在的抗性相差也很大。如在肠杆菌科内,60℃时,**D 值**(decimal reduction time,在一定的条件下灭活 90% 最初的微生物群体的所需的时间)可从几分钟(*E. coli*)到 1 小时(*Salmonella enterica* serotype Senftenberg)。金黄色葡萄球菌在 70℃时 D 值一般小于 1 分钟,相比之下,表皮葡萄球菌为 3 分钟,曾分离过一株金黄色葡萄球菌在 70℃时 D 值竟高达 14 分钟。因此,从一种微生物得到的灭活数据不能推导到另一种微生物。一种可杀灭细菌的消毒剂不一定能灭活病毒。灭活朊粒需要的能量就是正常热力灭菌的 6 倍,由于直接接触脑组织、神经组织(包括视网膜)和扁桃体的器材为传播朊粒的高危器材,当消毒灭菌时就应考虑到这一点。肝炎病毒,特别是乙型肝炎病毒也比其他病毒和大多数细菌繁殖体对热和消毒剂的抗性强。

(二) 微生物的生理状态

消毒灭菌前微生物的生长情况显著影响它们的抵抗力。在营养缺陷下生长的微生物比在营养丰富的情况下生长的微生物具有更强的抵抗力。细菌繁殖体的抵抗力从开始直到对数期的后期通常较强,自稳定期才开始不规则地下降。

(三) 微生物的数量

微生物最初的数量越大,所需消毒的时间就越长。消毒灭菌前严格的洗涤和清洁是保证消毒灭菌成功的基本步骤。如果这点不可能做到,如实验室的培养物,就必须延长消毒灭菌时间。

(四) 消毒剂的性质、浓度与作用时间

笔记

各种消毒剂的理化性质不同,对微生物的作用大小各异。例如表面活性剂对革兰阳性菌的

杀灭效果比对革兰阴性菌好，而且表面活性剂一般只能对细菌繁殖体有作用，不能杀灭细菌芽胞和真菌；氧化剂中的过氧乙酸和含氯化合物对环境和空气中的病毒作用效果好。同一种消毒剂的浓度不同，其消毒效果也不同。绝大多数消毒剂在高浓度时杀菌作用大，当降低至一定浓度时只有抑菌作用，如含氯消毒剂浓度增加一倍，杀菌时间减少 30%。但醇类例外，70% 乙醇或 50%~80% 异丙醇的消毒效果最好，因过高浓度的醇类使菌体蛋白质迅速脱水凝固，影响了醇类继续向内部渗入，降低了杀菌效果。消毒剂在一定浓度下，对细菌的作用时间愈长，消毒效果也愈好。

（五）温度

消毒剂的杀菌实质上是化学反应，其反应速度随温度升高而加快。因此，温度升高可提高消毒效果。例如 2% 戊二醛杀灭每毫升含 10^4 个炭疽芽胞杆菌的芽胞时，20℃时需 15 分钟，40℃时为 2 分钟，56℃时仅 1 分钟即可。又如温度增高 10℃，含氯消毒剂的杀菌时间减少 50%~65%。

（六）酸碱度

消毒剂的杀菌作用受酸碱度的影响。例如戊二醛本身呈酸性，其水溶液呈弱酸性，不具有杀死芽胞的作用，只有在加入碳酸氢钠后才发挥杀菌作用。苯扎溴铵的杀菌作用是 pH 愈低，杀菌所需药物浓度愈高，在 pH 为 3 时所需的杀菌浓度，较 pH 为 9 时要高 10 倍左右。含氯消毒剂在酸性 pH 时，杀菌活性最高。

（七）有机物

环境中有机物的存在，能够显著影响消毒剂的效果。病原菌常随同排泄物、分泌物一起存在，这些物质如脓、痰、血液和尿可阻碍消毒剂与病原菌的接触，并消耗药品，因而减弱消毒效果。此外，肥皂、去垢剂或其他消毒剂也会灭活消毒剂的效果。

第六节　细菌的分类

一、细菌的分类原则与层次

细菌分类学（bacterial taxonomy）是一个古老的、传统的学科，又是一个现代化的、发展的学科。细菌的分类原则上分为**传统分类**和**种系分类**（phylogenetic classification）两种。前者以细菌的生物学性状为依据，由于对分类性状的选择和重视程度带有一定的主观性，故又称为人为分类；后者以细菌的发育进化关系为基础，故又称为自然分类。具体到细菌鉴定（identification）和分类（classification）的方法包括**表型分类**、**分析分类**和**基因型分类**。

1. **表型分类**　以细菌的**形态**和**生理特征**为依据的分类方法，即选择一些较为稳定的生物学性状，如菌体形态与结构、染色性、培养特性、生化反应、抗原性等作为分类的标记。它奠定了传统分类的基础。20 世纪 60 年代开始借助计算机将拟分类的细菌按其性状的相似程度进行归类（一般种的水平相似度 > 80%），以此划分种和属，称为数值分类。

2. **分析分类**　应用电泳、色谱、质谱等方法，对**菌体组分**、**代谢产物组成**与**图谱等特征**进行分析，例如细胞壁脂肪酸分析、全细胞脂类和蛋白质的分析、多点酶电泳等，为揭示细菌表型差异提供了有力的手段。

3. **基因型分类**　分析细菌的**遗传物质**，揭示了细菌**进化**的信息，是最精确的分类方法。包括 DNA 碱基组成（G+C mol%）、核酸分子杂交（DNA-DNA 同源性、DNA-rRNA 同源性）和 16S rRNA 同源性分析，比较细菌大分子（核酸、蛋白质）结构的同源程度等，其中 16S rRNA 更为重要，因其在进化过程中保守、稳定，很少发生变异，是种系分类的重要依据。

随着方法学的发展，细菌的分类不断完善而且更加科学。1987 年 Woese 在大量 16S rRNA

笔记

序列分析的基础上，描绘出生物系统发育树，由古细菌（Archaebacteria）、真细菌（Eubacteria）和真核细胞（Eukaryotes）共同构成生物三原界。后来演变为**古生菌**（Archaea）、**细菌**和**真核生物**三个域。古生菌和细菌同为原核生物，核糖体均为70S。古生菌在地球上出现最早，生存在极端环境（高温、高盐、低pH），细胞壁无肽聚糖，蛋白质合成起始甲硫氨酸不需甲酰化，tRNA基因中有内含子，含有多种RNA多聚酶，蛋白质合成对白喉毒素的抑制敏感，而对氯霉素的抑制不敏感，这些特性与真核生物相同，而与细菌不同。

国际上最具权威性的细菌分类系统专著《伯杰氏系统细菌学手册》（1984年）和《伯杰氏鉴定细菌学手册》第9版（1994年）都已反映了细菌种系分类的研究进展，但在具体编排上仍保留了许多传统分类的安排。最新出版的《伯杰氏系统细菌学手册》（2004年）又收集了4000余种模式菌株的16S rRNA序列，力求细菌分类学模式（taxonomic model）和种系发育模式（phylogenetic model）的一致性，将原核生物分为两个域，即古生菌域和细菌域，前者分为2个门，后者分为24个门，依次再分为纲、目、科、属、种。目前，尚未在古生菌中发现病原菌。之后于2001—2012年分别出版了5卷各自描述archaea、proteobacteria、firmicutes、bacteroidetes、actinobacteria等详细分类。医学上常见的重要细菌见表2-2。

表2-2 与医学有关细菌的分类

类别	属
Ⅰ.革兰阴性有细胞壁的真细菌	
螺旋体	密螺旋体属 疏螺旋体属 钩端螺旋体属
需氧/微需氧、有动力、螺旋形/弧形革兰阴性菌	螺菌属 弯曲菌属 螺杆菌属
需氧/微需氧、革兰阴性杆菌与球菌	假单胞菌属 军团菌属 奈瑟菌属 莫拉菌属 产碱杆菌属 布鲁氏菌属 罗卡利马体属 鲍特菌属 弗朗西斯菌属
兼性厌氧革兰阴性杆菌	埃希菌属 志贺菌属 沙门菌属 克雷伯菌属 变形杆菌属 普罗威登斯菌属 耶尔森菌属 弧菌属 巴氏杆菌属 嗜血杆菌属
厌氧革兰阴性直、弯或螺旋形杆菌	类杆菌属 梭杆菌属 普雷沃菌属

笔记

续表

类别	属
厌氧革兰阴性球菌	韦荣球菌属
立克次体与衣原体	立克次体属 考克斯体属 衣原体属
非光合滑行菌	二氧化碳嗜纤维菌属
Ⅱ.革兰阳性有细胞壁的细菌	
革兰阳性球菌	肠球菌属 葡萄球菌属 链球菌属 消化链球菌属
可形成芽胞的革兰阳性杆菌与球菌	芽胞杆菌属 梭菌属
形态规则的无芽胞革兰阳性杆菌	李斯特菌属 丹毒丝菌属
形态不规则的无芽胞革兰阳性杆菌	棒状杆菌属 放线菌属 动弯杆菌属
分枝杆菌	分枝杆菌属
放线菌	诺卡菌属 链霉菌属 红球菌属
Ⅲ.无细胞壁真细菌	支原体属 脲原体属
Ⅳ.古细菌	(未发现病原菌)

细菌的分类层次与其他生物相同,但在细菌学中常用的是**属**和**种**。

种(species)是细菌分类的基本单位。关于种的定义,目前较为广泛接受的观点是彼此间有70%或70%以上DNA同源性,同时也具有5℃或更低的ΔTm值的细菌群体构成一个菌种。特性相近,关系密切的若干菌种组成一个菌属(genus)。同一菌种的各个细菌,虽特性基本相同,但在某些方面仍有一定差异,差异较明显的称**亚种**(subspecies,subsp.)或变种(variety,var.),差异小的则为**型**(type)。例如按抗原结构不同而分**血清型**(serotype);对噬菌体和细菌素的敏感性不同而分**噬菌体型**(phage-type)和细菌素型(bacteriocin-type);生化反应和其他某些生物学性状不同而分**生物型**(biotype)。变种因易与亚种混淆,已不再单独使用,与其他词复合构成代替“型”的术语,如biovar就是生物型(biotype)。按此原则,大肠埃希菌(种)则属于原核生物界、细菌域、变形菌门、γ-变形菌纲、肠杆菌目、肠杆菌科、埃希菌属中的一个种,全称为大肠埃希菌。

对不同来源的同一菌种的细菌称为该菌的不同**菌株**(strain)。具有某种细菌典型特征的菌株称为该菌的**标准菌株**(standard strain)或**模式菌株**(type strain)。

二、细菌的命名法

细菌的命名采用**拉丁双名法**,每个菌名由两个拉丁字组成。**前一字为属名,用名词,大写;后一字为种名,用形容词,小写**。一般属名表示细菌的形态或发现或有贡献者,种名表明细菌的性状特征、寄居部位或所致疾病等。**中文的命名次序与拉丁文相反,是种名在前,属名在后**。例

笔记

如 *Staphylococcus aureus*,金黄色葡萄球菌;*Escherichia coli*,大肠埃希菌;*Neisseria meningitidis*,脑膜炎奈瑟菌等。属名亦可不将全文写出,只用第一个字母代表,如 *M. tuberculosis*,*S. typhi* 等。有些常见菌有其习惯通用的俗名,如 tubercle bacillus,结核杆菌;typhoid bacillus,伤寒杆菌;meningococcus,脑膜炎球菌等。**有时泛指某一属细菌,不特指其中某个菌种,则可在属名后加 *sp.*(单数)或 *spp.*(复数)**,如 *Salmonella sp.* 表示为沙门菌属中的细菌。

(汤 华)

笔记

第三章　噬　菌　体

噬菌体(bacteriophage)**是感染细菌、真菌、放线菌或螺旋体等微生物的病毒**。噬菌体**具有病毒的基本特性**：个体微小，可以通过细菌滤器；无细胞结构，主要由蛋白质构成的衣壳和包含于其中的核酸组成；只能在活的微生物细胞内复制增殖，是一种**专性胞内寄生**的微生物。

噬菌体分布极广，凡是有细菌的场所，就可能有相应噬菌体的存在。在人和动物的排泄物或其污染的井水、河水中，常含有肠道细菌的噬菌体。在土壤中，也可找到土壤细菌的噬菌体。

噬菌体**有严格的宿主特异性**，只寄居在易感宿主菌体内并裂解细菌，故流行病学可利用噬菌体进行细菌的鉴定与分型，以追查感染源。临床上有时利用噬菌体作为某些局部感染的辅助治疗。另外，噬菌体由于基因数目较少，增殖速度较快又易于培养，在分子生物学中被作为外源基因的载体，用于研究核酸的复制、转录以及表达等重要理论问题，因此噬菌体已成为分子生物学的重要研究工具。

第一节　噬菌体的生物学性状

1. 形态与结构　噬菌体在光学显微镜下看不见，需用电子显微镜观察。噬菌体在电子显微镜下有三种基本形态，即**蝌蚪形**(图 3–1)、**微球形**和**细杆形**。大多数噬菌体呈蝌蚪形，由**头部**和**尾部**两部分组成(图 3–2)。头部呈六边形立体对称，由蛋白质**衣壳**包绕核酸组成；尾部是一管状结构，由一个中空的**尾髓**和外面包裹的**尾鞘**组成，尾髓具有收缩功能，可将头部的核酸注入宿主菌细胞内；尾部末端尚有**尾板**、**尾刺**和**尾丝**，尾板内可能含有裂解宿主菌细胞壁的溶菌酶；尾丝为噬菌体的吸附器官，能识别宿主菌体表面的特异性受体。头部和尾部连接处有尾领、尾须结构，尾领与头部装配有关，某些噬菌体尾部很短或缺失。

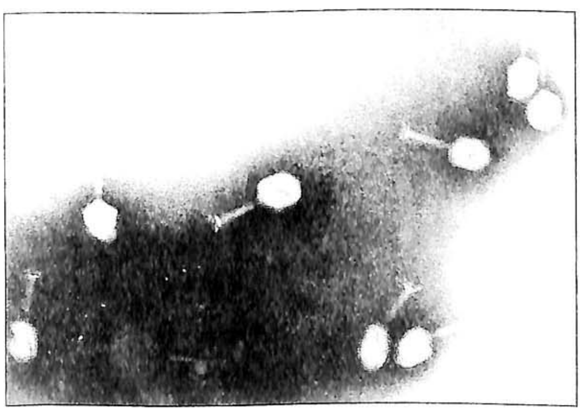


图 3–1　蝌蚪形噬菌体
大肠埃希菌 T2 噬菌体(×40 000)

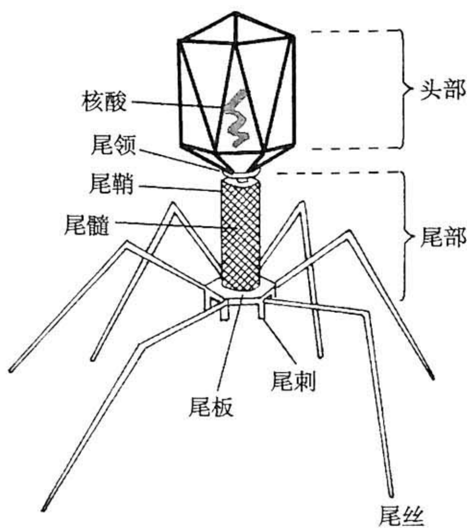


图 3–2　噬菌体结构模式图

2. 化学组成　噬菌体主要由**核酸**和**蛋白质**组成。核酸是噬菌体的遗传物质，噬菌体的基因组大小为 2~200kb。蛋白质构成噬菌体的头部衣壳与尾部，包括尾髓、尾鞘、尾板、尾刺和尾丝，起着保护核酸的作用，并决定噬菌体外形和表面特征。

笔记

噬菌体的**核酸类型为** DNA 或 RNA，并因此可将噬菌体分成 DNA 噬菌体和 RNA 噬菌体两大类。大多数 DNA 噬菌体的 DNA 为线状双链，但某些微小 DNA 噬菌体的 DNA 为环状单链。多数 RNA 噬菌体的 RNA 为线状单链，少数为分节段的线状双链。有尾噬菌体的核酸均为线状双链 DNA，无尾噬菌体的核酸为环状单链 DNA 或线状单链 RNA（表 3-1）。某些噬菌体的基因组中含有异常碱基，如大肠埃希菌 T 偶数噬菌体无胞嘧啶，而代之以 5- 羟甲基胞嘧啶与糖基化的 5- 羟甲基胞嘧啶；某些枯草芽胞杆菌噬菌体的 DNA 无胸腺嘧啶，而代之以尿嘧啶或 5- 羟甲基尿嘧啶。由于这些异常碱基不会出现在宿主菌基因组中，因此可作为噬菌体 DNA 的天然标记。

表 3-1 噬菌体的形态与核酸特征

噬菌体	宿主菌	形态	核酸
T1-T7、λ、N4	大肠埃希菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
P1	志贺菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
P22	沙门菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
SP01、SP82	枯草芽胞杆菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
ϕ29	解淀粉芽胞杆菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
PM2	假单胞菌	微球形，有包膜	dsDNA，线状
ϕX174、S13、M12、G4	大肠埃希菌	微球形	ssDNA，线状
f1、fd、M13	大肠埃希菌	细杆形	ssDNA，线状
MS2、f2、fr、Qβ	大肠埃希菌	微球形	ssRNA，线状
ϕ6	假单胞菌	微球形，有包膜	dsRNA，线状，分成 3 节段

3. 抗原性 噬菌体具有抗原性，能够刺激机体产生特异性抗体。该抗体能抑制相应噬菌体侵袭宿主菌，但对已吸附或已进入宿主菌的噬菌体不起作用。

4. 抵抗力 噬菌体对理化因素的抵抗力**比一般细菌繁殖体强**，加热 70℃ 30分钟仍不失活，也能耐受低温。大多数噬菌体能抵抗乙醚、三氯甲烷和乙醇，在 5g/L 升汞和 5g/L 苯酚中，经 3~7 天不丧失活性，而在过饱和氯化钙溶液中，保持数年不失活。但对紫外线和 X 射线敏感，一般经紫外线照射 10~15 分钟即失去活性。

第二节 毒性噬菌体

根据与宿主菌的相互关系，噬菌体可分为两种类型：一种是能在宿主菌细胞内复制增殖，产生许多子代噬菌体，并最终裂解细菌，称为**毒性噬菌体**（virulent phage）；另一种是噬菌体基因组整合于宿主菌染色体中，不产生**子代噬菌体**，也不引起细菌裂解，但噬菌体 DNA 随细菌基因组的复制而复制，并随细菌的分裂而分配至子代细菌的基因组中，称为**温和噬菌体**（temperate phage）或**溶原性噬菌体**（lysogenic phage）。

毒性噬菌体在宿主菌内以**复制方式**进行增殖，增殖过程包括**吸附**、**穿入**、**生物合成**、**成熟与释放**等四个阶段。从噬菌体吸附开始至宿主菌裂解释放出子代噬菌体为止，称为噬菌体的**复制周期**或**溶菌周期**。其复制周期与病毒的复制周期相似，只是缺乏脱壳阶段，其衣壳仍保留在被感染的菌体细胞外。

1. 吸附 吸附是噬菌体表面蛋白与其宿主菌表面受体发生特异性结合的过程，其特异性取决于两者分子结构的互补性。不同噬菌体的吸附方式不同，细杆形噬菌体以其末端吸附，蝌蚪形噬菌体以尾丝、尾刺吸附；某些细杆形噬菌体及微球形噬菌体可吸附于细菌的性菌毛上，所以这些噬菌体仅感染有性菌毛的 F^+ 菌。只要细菌具有特异性受体，无论死活，噬菌体均能吸附，

笔记

但噬菌体核酸不能进入已死亡的宿主菌内。

2. **穿入** 有尾噬菌体吸附于宿主菌后，借助尾部末端的溶菌酶在宿主菌细胞壁上溶一小孔，然后通过尾鞘的收缩，将头部的核酸注入菌体内，而蛋白质衣壳留在菌体外。无尾噬菌体与细杆形噬菌体可以脱壳的方式使核酸进入宿主菌内。

3. **生物合成** 噬菌体核酸进入菌细胞后，一方面通过转录生成 mRNA，再由此翻译成噬菌体所需的与其生物合成有关的酶、调节蛋白和结构蛋白；另一方面以噬菌体核酸为模板，大量复制子代噬菌体的核酸。

4. **成熟与释放** 子代噬菌体的蛋白质与核酸分别合成后，在宿主菌细胞质中按一定程序装配成完整的成熟噬菌体。当子代噬菌体达到一定数目时，裂解菌细胞释放出子代噬菌体，后者又可感染新的宿主菌。某些丝形噬菌体是以**出芽**方式逐个释放子代噬菌体。

在液体培养基中，噬菌体裂解宿主菌可使混浊菌液变澄清；而在固体培养基上，将适量的噬菌体和宿主菌液混合接种培养后，培养基表面可出现透亮的溶菌空斑，每个空斑系由一个噬菌体复制增殖并裂解宿主菌后形成的，称为**噬斑**(plaque)，不同噬菌体噬斑的形态与大小不尽相同。通过噬斑计数，可测知一定体积内的**噬斑形成单位**(plaque forming unit，PFU)数目，即噬菌体的数量。

第三节 温和噬菌体

温和噬菌体的基因组整合于宿主菌基因组中，这种整合在细菌染色体上的噬菌体基因称为**前噬菌体**(prophage)。前噬菌体可随细菌染色体的复制而复制，并通过细菌的分裂而传给下一代，不引起细菌裂解，这种带有前噬菌体的细菌称为**溶原性细菌**(lysogenic bacterium)。前噬菌体偶尔可自发地或在某些理化和生物因素的诱导下脱离宿主菌染色体而进入溶菌周期，产生成熟的子代噬菌体，导致细菌裂解。温和噬菌体具有的这种产生成熟子代噬菌体颗粒和裂解宿主菌的潜在能力，称为**溶原性**(lysogeny)。由此可知，温和噬菌体有三种存在状态：①游离的具有感染性的噬菌体颗粒；②宿主菌细胞质内类似质粒形式的噬菌体核酸；③前噬菌体。温和噬菌体有溶原性周期和溶菌性周期(图 3-3)，而毒性噬菌体只有一个溶菌性周期。

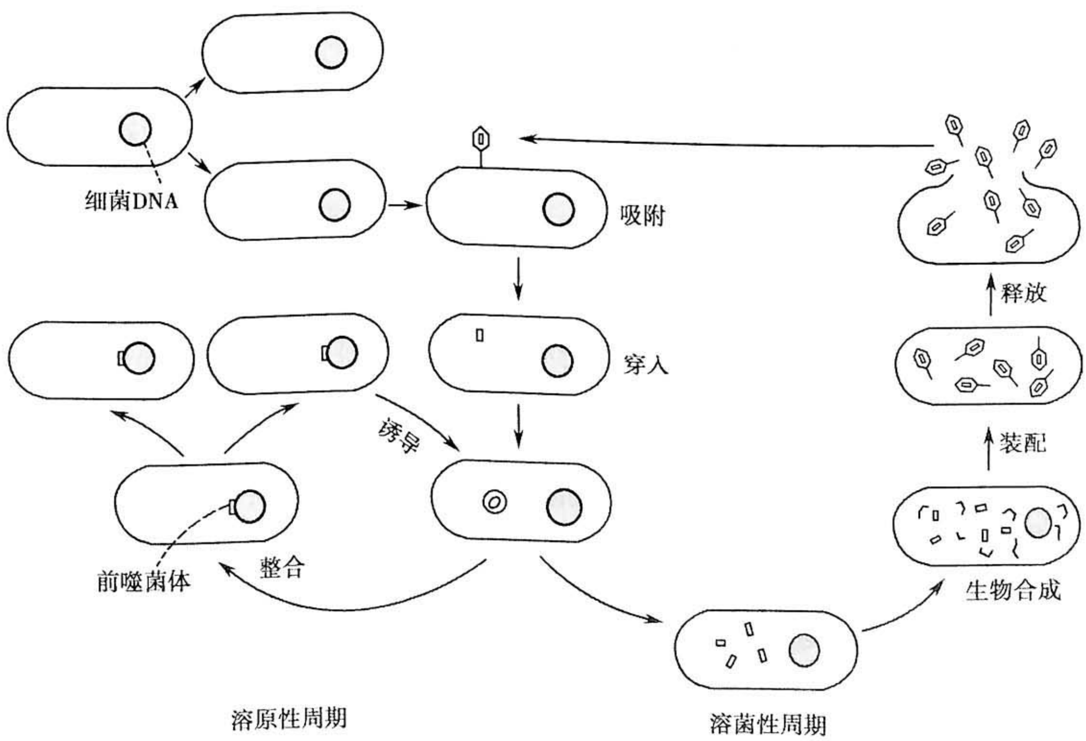


图 3-3 溶原性细菌的溶原性周期和溶菌性周期

笔记

溶原性细菌具有抵抗同种或有亲缘关系噬菌体重复感染的能力，使宿主菌处在一种噬菌体免疫状态。这种免疫性不同于细菌对噬菌体的抗性突变，这种抗性可使噬菌体不能吸附于细菌表面的特异性受体。

某些前噬菌体可导致细菌基因型和性状发生改变，称为**溶原性转换**(lysogenic conversion)。如白喉棒状杆菌产生白喉毒素的机制，是因 β－棒状杆菌噬菌体感染白喉棒状杆菌后，由于噬菌体DNA携带编码白喉毒素的基因，使无毒的白喉棒状杆菌获得了产生白喉毒素的能力。另外，肉毒梭菌产生的肉毒毒素、金黄色葡萄球菌产生的溶素，以及沙门菌、志贺菌等抗原结构和血清型别均与溶原性转换有关。当溶原性细菌失去其前噬菌体，则有关性状亦随之消失。

第四节 噬菌体的应用

1. 细菌的鉴定和分型 由于噬菌体裂解细菌有种的特异性，故可用于细菌的鉴定。如利用已知的噬菌体鉴定未知的霍乱弧菌、鼠疫耶尔森菌等。噬菌体裂解细菌又有型特异性，所以又可用噬菌体对某一种细菌分型，即该菌的噬菌体型。如利用伤寒沙门菌 Vi 噬菌体已将有 Vi 抗原的伤寒沙门菌分为 96 个噬菌体型。

2. 检测标本中的未知细菌

(1) 噬菌体在自然界中分布广泛，凡有细菌的地方，如污水、土壤、人和动物的排泄物等都可能有噬菌体。所以，从标本中检出某种噬菌体常提示该标本中曾有相应的细菌存在。

(2) 根据噬菌体必须在活的敏感细菌内才能增殖这一特性，如将检测标本与一定数量已知噬菌体放到一起培养，只要噬菌体明显增加，即提示该标本中有相应的细菌存在。

3. 基因工程的工具 噬菌体在基因工程上可做外源基因的载体，常用的有 *E. coli* K12 λ 噬菌体和 *E.coli* 噬菌体 M13。前者可与外源基因重组后再转入到 *E.coli* 中，能在菌细胞内扩增外源基因或表达外源基因产物。因其可与较大的 DNA 片段(20kb)重组，故可用来建立真核细胞染色体的基因文库。后者是一种丝状的噬菌体，含单链环状 DNA，进入宿主细菌后，先变成双链复制中间型(replicative intermediate，RI)，然后进行复制。子代噬菌体释放并不使细菌裂解。此 RI 如与外源 DNA 重组转入受体菌，外源 DNA 则在受体菌内扩增并以单链形式分泌到菌体外，可做 DNA 序列分析的模板。

4. 用于细菌性感染的治疗 由于噬菌体对细菌的感染具有种的特异性，不像使用抗生素那样容易造成菌群失调或耐药，细菌对噬菌体产生耐受的可能性较小。因此可成为新的抗菌物质，尤其对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌等这些容易产生耐药性的细菌应用价值更大，有着较好的前景。

(黄 敏)

笔记

第四章　细菌的遗传与变异

遗传(heredity)和**变异**(variation)是细菌的基本属性之一。遗传是指亲代的特性可通过遗传物质传递给子代。细菌的遗传性保证了物种的稳定性。基因(gene)是遗传的基本单位。**细菌基因组**(genome)包含菌细胞的全部遗传信息,包括**染色体**和(或)外源性DNA(**质粒**、**噬菌体**的部分或全部的基因组),以及可移动元件(mobile elements)。细菌的全部遗传信息构成了细菌基因型(genotype),决定细菌的形态结构、生理代谢、致病性、免疫性及对药物的敏感性等性状。细菌的基因型决定同种间的相似性及个体间的差异性。然而,具有相同基因型的细菌,在不同的条件下,可呈现不同的特性。在特定外界环境中,细菌在生长中所表现的形态和生理特征等性状的总和,称为表型(phenotype)。

细菌的变异(variation)可分为两类,**遗传变异**(genetic variation)与**表型变异**(phenotypic variation)。遗传变异只发生在少数个体,但能稳定传给后代,可导致变种或新种的产生,有利于物种的进化;而表型变异则因外界因素所致,常波及同一环境中的大多数个体,因遗传物质的结构未改变,其变化为可逆,表型变异不能遗传。

细菌是单倍体原核细胞型生物,其基因组与真核细胞相比,相对比较简单,一旦基因发生变异,往往较快地在表型上得到反映。细菌的新陈代谢与生长繁殖迅速(在条件合适的情况下,细菌每20分钟分裂一次),因此可在短期内观察到生物特性的变异。随着细菌基因组不断的解密,以及细菌基因组结构与功能的深入研究,将加深对细菌遗传变异的认识,推动细菌致病机制、耐药机制、快速诊断、疫苗研发及防治新策略的研究。因此了解细菌的遗传与变异具有十分重要的理论意义和实用价值。

第一节　细菌基因组

细菌的遗传物质是DNA。**细菌基因组**组成包括染色体、质粒和噬菌体基因组。

一、细菌基因组的主要组成

1. 细菌的染色体(bacterial chromosome)　细菌基因主要位于染色体。现发现细菌的染色体具有多种形式,呈环状或线性等:大多数(> 90%)细菌的染色体为一条环状双螺旋双链DNA(dsDNA),大小范围在580~5220kb之间。染色体附着在横隔中介体或细胞膜上。少数细菌染色体则由两条环状dsDNA分子组成,如霍乱弧菌,问号钩端螺旋体,马耳他布鲁氏菌(*Brucella melitensis*),还有个别细菌含有三条环状dsDNA分子;而疏螺旋体属,包括伯道疏螺旋体、伽氏疏螺旋体、埃氏疏螺旋体和*Bradyrhizobiun japonicum*等的染色体则为线性dsDNA分子。

细菌基因组的大小与其所含基因数密切相关,与真核细胞不同,其非编码序列很少。细菌基因组中大多数基因为单拷贝,而rRNA基因则往往为多拷贝,以便快速组装大量核糖体以满足细菌迅速生长繁殖的需要。在基因组中,功能相关的基因往往会前后相连成串,由一个共同的调控区或调控基因进行转录的控制,形成操纵子(operon)。细菌的基因结构中无内含子(intron),转录后形成的RNA无须剪接加工。细菌基因组中非编码序列较少,因此许多细菌的基因数与基因组的大小成正相关,接近于基因组的分子量。

不同细菌染色体的G+C含量不同,据此可分析细菌种属关系或基因来源。随着测序技术

笔记

的发展，现在越来越多的细菌的全基因组序列被注释，分析显示细菌的种内和种间存在着广泛的遗传物质交换，如耐药性基因和致病岛的获得。**细菌致病岛**(pathogenic island，PAI)是指病原菌基因组中存在编码与细菌毒力或致病性相关因子(如黏附因子、毒素等)的外源DNA片段(1~200kb)，其两侧往往含有重复序列、插入序列或tRNA，可经**水平传递**(horizontal gene transfer)。致病岛基因序列的G+C含量和密码子使用偏向性与细菌染色体有明显差异。细菌基因组中可能存在有多个细菌致病岛。

细菌染色体中具有各种功能的识别区域，如复制起始区OriC、复制终止区TerC、转录启动区和终止区等，该区域往往具有特殊的顺序。

2. **质粒**(plasmid) 质粒是细菌染色体外遗传物质，存在于细胞质中的环状闭合或线性dsDNA，具有自我复制的能力，一个质粒即为一个复制子(replicon)。质粒不是细菌生命活动不可缺少的遗传物质，质粒携带的信息可赋予宿主菌某些特定生物学性状，如致育性、耐药性、致病性等。质粒可自行丢失或通过人工处理消除(curing)，如高温、吖啶橙、溴化乙锭等处理。随着质粒的丢失与消除，质粒赋予宿主菌的某些生物学性状亦随之消失。有些质粒能够在多种细菌中复制(broad–host range plasmids)，而有些质粒则具有宿主菌范围。

细菌中存在大量不同种类的质粒，根据质粒的不同特性可进行以下分类：

(1) 根据质粒可否通过细菌的接合作用进行传递，分为接合性质粒(conjugative plasmid)和非接合性质粒(non–conjugative plasmid)两大类。接合性质粒带有与接合传递有关的基因，分子量较大，约40~100kb，如F质粒、R质粒等；非接合性质粒不能通过接合方式进行传递，分子量小，一般低于15kb，但也有例外，如志贺菌毒力质粒分子量达220kb。在一定条件下，接合性质粒可转导非接合性质粒或染色体。

(2) 根据质粒在宿主菌内的拷贝数，可分为严紧型质粒(stringent plasmid)和松弛型质粒(relaxed plasmid)。质粒拷贝数是指每个细菌内所含有相同质粒的数量。严紧型质粒的复制与染色体同步，拷贝数低，仅为数个，一般分子量较大。松弛型质粒的复制与染色体的复制无相关性，往往分子量小，拷贝数高，每个细胞可含有20~60个或更多个拷贝。

(3) 根据质粒的**相容性，可分为不相容性与相容性质粒**。因结构相似并密切相关的质粒不能稳定共存于一个宿主菌的现象称为不相容性(incompatibility)，反之则为相容性。质粒不相容性与相同或相似的宿主范围、复制部位、复制调控机制等因素有关。利用质粒的不相容性可将相关细菌分组，如肠杆菌科中分离的质粒已划分30余个不相容组，该特性常用于流行病学调查。

(4) 根据质粒基因编码的生物学性状分类：①致育质粒或称**F质粒**(fertility plasmid)，**编码性菌毛，介导细菌间质粒的接合传递**。②耐药性质粒(resistance plasmid)：其中可通过接合方式进行基因传递的称接合性耐药质粒，又称**R质粒**(R factor)，其编码产物与多种抗菌药物和重金属的抗性相关，在革兰阴性菌中多见。不能通过细菌接合传递的质粒，称非接合性耐药质粒，又称r质粒，可通过噬菌体转导等方式在细菌间传递。③毒力质粒(virulence plasmid)，编码与细菌致病性相关的毒力因子，如肠产毒素大肠埃希菌中的ST质粒编码耐热性肠毒素。④细菌素质粒：编码各类细菌素，如Col质粒(Colicinogenic plasmid)编码大肠埃希菌的大肠菌素。⑤代谢质粒：编码与代谢相关的酶类，如沙门菌发酵乳糖的能力通常由质粒决定。

3. **噬菌体基因组** 噬菌体是侵袭细菌的病毒，其基因组所携带的遗传信息可赋予宿主菌某些生物学性状。温和性噬菌体的基因组可整合在细菌染色体上，成为前噬菌体(prophage)；前噬菌体也可与宿主菌染色体脱离。噬菌体的这种特性，亦可介导细菌相关基因的转移，参与细菌的遗传与变异。

二、细菌基因组中主要的特殊结构

笔记

在细菌基因组中存在一些可移动转座子和插入序列等元件。可移动遗传元件的移动方式

称为转位(transposition),因此又称转座元件(transposable element)。转座元件是一类不依赖于同源重组即可在**细菌或其他生物的基因组(染色体、质粒、噬菌体基因组)中**改变自身位置的独特DNA序列,又称为跳跃基因(jumping genes),可导致基因的不稳定和高突变率。在细菌基因组中可发现一些外源DNA片段,其G+C百分比和密码子使用偏向性与细菌染色体有明显差异,两侧往往含有重复序列、插入序列或tRNA,片段中间所带的基因与细菌的耐药性、致病性/毒力或某些代谢有关,称之为耐药性岛、致病岛/毒力岛或代谢岛。转座元件的发现,证明基因组不仅仅是静态的集合体,而是不断在改变自身组成的动态有机体(McClintock于20世纪40年代发现可移动的遗传元件mobile genetic elements,1983年荣获诺贝尔生物医学奖)。

转座元件的插入位点无须存在同源性的核苷酸序列,是一种与同源重组不同的重组类型。转座元件的转移有两种类型:保留性转位(conservative transposition)和复制性转位(replicative transposition)。保留性转位是通过所编码的转座酶将转座元件自原位点切割下来,插入至其他位点。在复制性转位时,转座元件的一个拷贝保留在供体原位,而另外一个拷贝则插入到新靶位点。

转座元件的转移可发生在同一染色体上,也可发生在染色体之间,质粒之间,或染色体和质粒之间。已证实所有生物均有可转移元件,其转位作用主要依赖自身合成的特异性**转座酶**(transposase)。转座元件可通过位置移动改变遗传物质的核苷酸序列,产生插入突变、基因重排或插入位点附近基因转录表达的改变。因此,转座元件在促进细菌生物学性状改变及进化过程中的作用不可忽视。转座元件主要为插入序列和转座子等(表4-1,图4-1),广泛存在于革兰阴性和革兰阳性细菌中。

表4-1 常见的插入序列和转座子

插入序列	序列长度(bp)	转座子	耐药基因或毒素基因
IS1	768	Tn1、Tn2、Tn3	氨苄青霉素
IS2	1327	Tn4	氨苄青霉素、链霉素、磺胺类等
IS3	1300	Tn5(5700bp)	卡那霉素、博莱霉素、链霉素等
IS4	1426	Tn6	卡那霉素
IS5	1195	Tn7	甲氧苄氨嘧啶
IS8	~1750	Tn9(2638bp)	氯霉素
IS10-R	1329	Tn10(9300bp)	四环素
1350-R	1531	Tn551	红霉素
IS913-R	1000	Tn681	大肠埃希菌肠毒素
ISR1	~1100	Tn903	卡那霉素
		Tn971	红霉素

1. **插入序列**(insertion sequence,IS) IS是细菌中最简单的一类转座元件,其长度为数百个至2000个碱基对,相当于1~2基因的编码量,不携带任何与转位功能无关的已知基因。IS是细菌染色体、质粒和某些噬菌体基因组的正常组分,其共同特征为:两侧末端有**反向重复序列**(inverted repeat),长度不一定相等,约3~10bp为重组酶的识别位点,中心序列编码转座酶及与转录有关的调节蛋白。IS一般只编码一种参与转移作用的转座酶,识别反向重复序列,催化转座元件自基因组中解离。IS可双向插入,通过正、反向整合到基因组上。

IS可独立存在,也可成为转座子的一部分。在细菌染色体和质粒中含有多种IS,每种IS还可有多个拷贝,是造成基因重组的条件之一。F质粒与大肠埃希菌染色体有相同的插入序列,如IS2、IS3等,由于相同序列的存在,F质粒可通过同源重组插入到细菌的染色体上,使细菌成为高

笔记

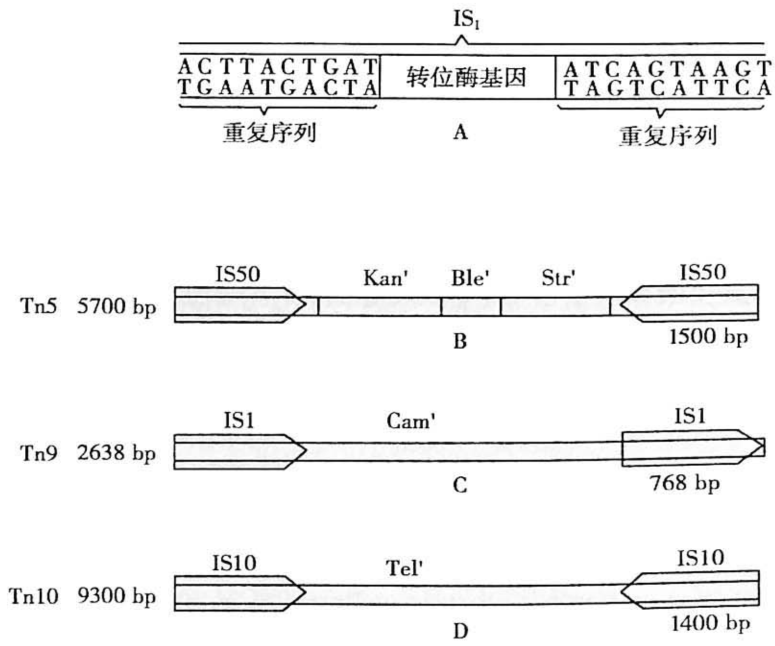


图 4-1 插入序列和转座子

A. IS 中间为转座酶基因，两端为反向重复序列；B. Tn5：中间为卡那霉素、博来霉素、链霉素抗性基因，两端为 IS；C. Tn9：中间为氯霉素抗性基因，两端为 IS；D. Tn10：中间为四环素抗性基因，两端为 IS

频重组株(high frequency recombinant, Hfr)。

2. **转座子**(transposon, Tn) Tn 的结构比较复杂，除了**两端的** IS 和携带的与转移作用有关基因外，还携带其他基因(耐药性基因、抗重金属基因、糖发酵基因、毒力基因等)，大小约 2000~25 000bp。转座子携带的基因可随 Tn 的转移而发生转移重组，可导致插入突变、基因重排或插入点附近基因表达的改变。基因转移在促使生物变异及进化上具有重大意义。

根据结构特征的不同转座子可分为复合型转座子、Tn3 系转座子和接合性转座子。复合型转座子的中间为抗生素抗性基因，两端各有 1 个相同的 IS，IS 的两端带有反向重复序列。复合型转座子易将携带的抗性基因在细菌染色体、质粒和噬菌体基因组之间转移，这种转移作用是自然界细菌耐药性产生的重要原因之一。Tn3 系转座子的两末端无 IS，但含有 20~40 个末端正向或反向的重复序列，中间部分为与 Tn 功能相关的基因和抗生素相关基因。接合性转座子是在革兰阳性球菌(肠球菌)的染色体上发现的一类可在细菌间通过结合作用进行转移的转座子，代表是 Tn916，既无末端反向重复序列，也无同向重复。

3. **整合子**(integron, In) 1989 年 Strokes 和 Hall 首次提出整合子的概念。**整合子**是一种可移动的 DNA 分子，具有独特结构可捕获和整合外源性基因，使之转变成**为功能性基因的表达单位**，可通过转座子或接合性质粒，使多种耐药基因在细菌中进行水平传播。整合子存在于许多细菌中，定位于染色体和质粒或转座子上，可捕获外源性基因，导致细菌生存适应性增强。整合子的基本结构由两端的保守末端和中间的可变区构成。可变序列含有一个或多个基因盒，是整合子的非必需组成部分。基因盒由一个结构基因(多为耐药基因)和 57~141 个碱基对组成。整合子含有 3 个功能元件：整合酶基因、重组位点和启动子，均位于整合子 5′ 保守末端。

整合酶催化基因盒在重组位点上的整合及切除，整合子的启动子启动整合子基因的表达。整合酶属于酪氨酸整合酶家族，根据其整合酶基因序列的不同可进行分类，目前发现至少有 6 类整合酶。

在正常细菌生长过程中，并非基因组中所有的基因同时开放转录表达，有些基因在细菌生长的特定阶段或接触到某些基质分子时才呈现关闭或开放状态。为了快速适应环境的变化，

笔记

并防止蛋白质合成时过多地消耗能量，细菌具有有效的基因表达的调节系统。细菌的许多相关基因串联排列在染色体的特定部位，上游的启动子（promoter）和（或）调控信号序列与操纵基因（operator gene）序列共同构成一个转录单位，称为**操纵子**（operon）。操纵子中的启动子及调控信号序列调节操纵子的表达，操纵子中串联排列的功能相关基因同时转录和翻译，最终形成数个功能相关的蛋白质，如大肠埃希菌乳糖操纵子（lac operon）。乳糖代谢需 β 半乳糖苷酶、透过酶和乙酰化酶参与。编码这三种酶的基因是 *lac z*、*lac y* 和 *lac a*，串联排列于大肠埃希菌 DNA 上，其上游有操纵基因、启动子和调节基因，调控这三种酶蛋白的产生。所表达的功能蛋白也可能对操纵子具有正反馈或负反馈的调控作用。

第二节　细菌基因突变

基因突变是指 DNA **碱基对的置换、插入或缺失**所致的基因结构的变化，可分点突变、插入或缺失突变、多点突变。碱基置换包括**转换**（transition）和**颠换**（transversion），前者是嘌呤－嘌呤或嘧啶－嘧啶的变化，后者是嘌呤－嘧啶或嘧啶－嘌呤的变化。碱基置换后可以出现沉默突变、错义突变和无义突变。插入或缺失突变通常指较长的碱基序列减少或增加，可导致**移码突变**。多点突变往往涉及染色体重排、倒位（inversion）、重复（duplication）或缺失。细菌突变可以是自发的，亦可通过理化因子诱导突变。

一、基因突变规律

1. 自发突变与诱发突变　突变可以自然发生，即**自发突变**。细菌在生长繁殖过程中，经常发生突变，细胞内错配修复酶可减少突变发生的几率，自发突变率约为每一世代 10^{-10}~10^{-6}。自发突变可以用实验方法检出。1943 年，Luria 与 Delbruck 利用**彷徨试验**（fluctuation test）首次检出自发突变型菌株(图 4-2)，试验过程如下：将 10^3/ml 噬菌体敏感大肠埃希菌分装在几个试管内，经培养至菌数为 5×10^9/ml 时，分别从各管取一定量的菌液接种在含有噬菌体的琼脂平板上，培

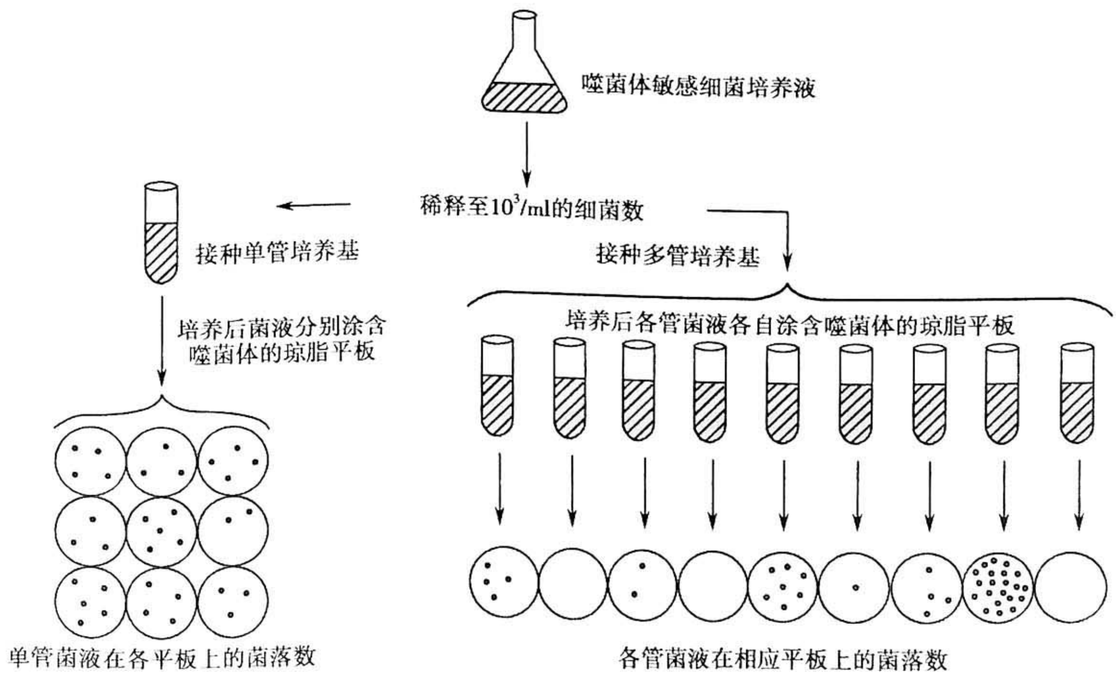


图 4-2　细菌自然突变的检出试验（彷徨试验）
左侧：同一管菌液接种的平板，各平板间噬菌体抗性菌落数基本相等
右侧：各管菌液接种的相应平板，各平板间噬菌体抗性菌落数相差较大
（引自钱利生．医学微生物学．上海：复旦大学出版社，2003）

笔记

养后，计数噬菌体抗性菌落数。假设(hypothesis)：如噬菌体抗性发生在细菌接触噬菌体之后，不同试管内菌液所含抗性菌落数应基本相似；如果抗性发生在细菌接触噬菌体之前，不同试管内菌液所含抗性菌落数则会有明显差别。结果显示，同一试管内几次取出的菌液，在各个琼脂平板上的抗性菌落相差不大；而不同试管内取出的菌液所含抗性菌落则相差悬殊，表示突变菌株在各试管内的存在或数量相关。彷徨试验证明，突变是自发的，随机的；突变发生在接触噬菌体之前，而噬菌体对突变仅起筛选作用，而不是诱导作用。

人工诱导产生的突变为**诱发突变**。诱发突变可提高细菌的突变率，**诱发突变**发生率比自发突变率提高 10~1000 倍，达到 10^{-6}~10^{-4} 左右。许多理化因子如 X 线、紫外线、电离辐射、亚硝酸盐、烷化剂及吖啶橙染料等都具有诱变活性，直接损伤 DNA 分子，而诱发保真度低的 SOS 修复系统，从而导致高突变率。对动物有致癌作用的化学因子或被动物组织转化后的代谢产物如丝裂霉素、黄曲霉素 B_1 等，对细菌都有诱变作用。检测细菌诱变因子的诱变试验可作为检测环境因子对人类致癌作用的筛选方法(Ames 试验)。

2. 突变与选择 彷徨试验证明突变是随机的，不定向的。发生突变的细菌只是大量菌群中的个别细菌。要从菌群中找出个别突变菌，必须将菌群放在一种利于突变菌而不利于其他菌生长的环境中，才能将突变株选择出来。为了筛选耐药菌株，1952 年，Lederberg 等设计了**影印培养试验**(replica plating)。先将抗生素敏感细菌接种在不含抗生素的琼脂平板上，待长出单个菌落后，取一块包有无菌丝绒的压模，在琼脂平板表面轻轻按印，使压模丝绒表面黏附细菌菌落印迹，再将此菌落印迹平行按压到含有抗生素的琼脂平板上(图 4-3)。经培养后，平板上敏感菌被完全抑制，而耐药菌生长，形成菌落。然后在原无抗生素平板上找出耐药菌的相应菌落，将此菌落移种到含抗生素的肉汤中培养，可见细菌生长。在整个试验过程中，该细菌未接触过抗生素，但已具有对抗生素的抗性。影印培养试验再次证明突变是自发的、随机的，突变是细菌在接触抗生素之前已经发生，抗生素仅起筛选抗性突变株的作用，而且突变发生越早，产生的抗性突变株就越多。

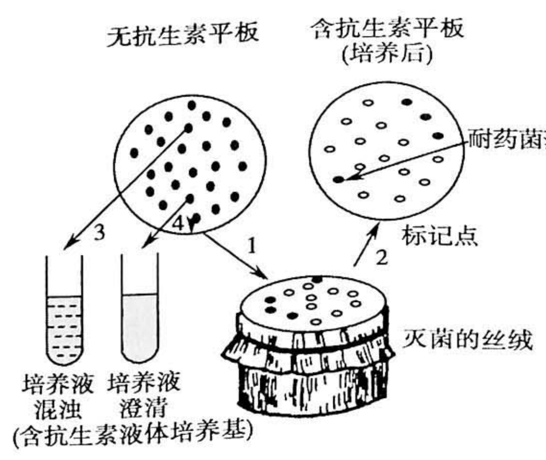


图 4-3 影印培养示意图

3. 回复突变与抑制突变 从自然界分离的未发生突变的菌株称为**野生型**(wild type)；相对于野生型菌株发生某一性状的改变，称为**突变型**(mutant type)。细菌由野生型变为突变型是**正向突变**；有时突变株经过第二次突变可恢复野生型的性状，称为**回复突变**(reverse mutation)。野生型 DNA 序列的回复突变(genotypic reversion)几率很低，因此往往是**表型回复突变**(phenotypic reversion)，即第二次突变没有改变正向突变的 DNA 序列，只是在第二个位点发生突变抑制第一次突变效应，称之为**抑制突变**(suppressor mutation)，从而使突变株重现野生型的表型。抑制突变若发生在同一基因内的不同部位，称为**基因内抑制**(intragenic suppression)；若发生在不同的基因，则称为**基因间抑制**(extragenic suppression)。回复突变可以是自发性的，其频率一般是正向突变的 10%，也可以用诱变剂处理增加其频率。

二、突变型细菌及其分离

现代分子生物学技术在 DNA 水平上为基因突变提供了详细的研究方法。然而，在细菌遗传学的研究中，基因突变的生物学意义研究仍依赖细菌突变体的分离和生物学特性的鉴定。理论上，细菌基因组的任何基因均可出现突变，当突变影响的基因产物是细菌生长所必需的而又不能被代偿时，细菌死亡，称为致死性突变。如果突变影响到基因产物仅在特定培养条件下才

笔记

是必需的，这种突变体在一定条件下可以存活。自然发生或诱导发生的突变型细菌，可以通过检测表型的改变来加以鉴定。

1. **抗性突变型**　包括噬菌体抗性突变和耐药性突变。**耐药性突变**是指原来对某种药物敏感的细菌发生变异而成为对该药具有耐受性的菌株，可用影印试验筛选耐药突变株。由于抗生素的广泛应用，临床分离的耐药菌株日益增多，涉及的抗生素种类也越来越多，包括青霉素、链霉素、利福平、四环素、红霉素等，且多重耐药菌菌株也在出现。耐药突变菌株可用于研究抗菌药物的作用机制和细菌的耐药机制。

2. **营养缺陷突变型**　细菌可以合成供其生长必需的代谢物质（如核苷酸、氨基酸、维生素等），因而在最低营养培养基（minimum medium，MM）中能够生长，成为原养型（prototroph）。如参与某种必需代谢物质的合成酶基因发生突变，细菌必须依赖于外界提供相应成分方能生长，称为**营养缺陷型**。如组氨酸缺陷型细菌（his^-），在培养时需提供组氨酸才能生长，故可用含组氨酸的选择培养基筛选（营养缺陷型突变体也可采用影印培养方法筛选）。生物合成酶突变产生的营养缺陷株在生物合成代谢途径的研究中具有价值。

3. **条件致死性突变型**　突变的细菌在某种特定条件下不能存活，而在其他适当条件下仍可生长正常或近似正常。常见的是**温度敏感突变株**（temperature sensitive mutant，ts 株），通过提高或降低温度，可以关闭或开启某基因产物的活性。如大肠埃希菌的 ts 株在 30℃条件下可以存活，但在 42℃不能生存，其原因是错义突变产生的蛋白质只能在较低温度下保持活性。

4. **发酵阴性突变型**　细菌突变后失去发酵某种糖的能力，主要是突变造成某种酶的缺陷。如乳糖发酵阴性突变型细菌（Lac^-），可根据乳糖发酵时的 pH 改变，判断和筛选乳糖发酵阴性突变株。

第三节　基因的转移和重组

细菌间基因的**转移**与**重组**是发生遗传性变异的重要原因之一。重组有两种方式：**同源重组**（homologous recombination）发生在序列相同或相近的供体和受体 DNA 片段之间的重组，因此同源重组发生在具有共同起源（common ancestry）的基因之间。同源重组可在受体－供体间双向交换 DNA 片段，也可以单向转移 DNA 片段，后者又被称为基因转换（gene conversion）。在细菌 rec 基因编码的重组酶作用下，由外源性单链 DNA 取代宿主菌染色体上的 DNA。重组酶具有与单链和双链 DNA 结合的活性、NTPase 活性及促进互补单链复性的活性。**非同源重组**（nonhomologous recombination）不需要 DNA 片段间的同源性。在位点专一重组酶的作用下，将缺失或插入的 DNA 重新连接。如转座子或前噬菌体基因组的插入，均依靠自身编码的位点专一重组酶的作用，完成与宿主菌染色体之间的重组，使受菌获得供菌的某些性状。根据 DNA 片段的来源及交换方式等不同，将基因转移和重组分为**转化**、**转导**、**接合**和**溶原性转换**等方式。DNA 可以从一种生物转递至另一生物，整合至染色体，改变其遗传信息的组成，这类基因转移的方式称之为**水平基因转移**（horizontal gene transfer，HGT），或**侧向基因转移**（lateral gene transfer，LGT）。这类遗传物质的交流可发生在亲缘、远缘，甚至无亲缘关系的生物之间。水平基因转移是相对于垂直基因转移（vertical inheritance）而言，打破了亲缘关系的界限，可获得更多遗传多样性。

一、转　化

转化（transformation）是**受体菌**直接摄取**供体菌的** DNA 片段而获得新的遗传性状的过程。

受体菌在直接摄取环境中细菌裂解的 DNA 片段时，取决于受体菌对转化的感受态。只有少数菌属可自然地呈现**感受态**（competence），如肺炎链球菌、枯草芽胞杆菌、流感嗜血杆菌、淋病

笔记

奈瑟菌和脑膜炎奈瑟菌等。DNA 片段一旦进入细胞内与受体菌的染色体同源重组，可稳定遗传。如果与受体菌无同源性，摄入的 DNA 片段则发生降解。

1928 年 Griffith 在研究肺炎链球菌时，首先发现细菌转化的现象。有荚膜的肺炎链球菌为Ⅲ型光滑型菌落（ⅢS 型），具有毒力，体内注射可致小鼠死亡；无荚膜的肺炎链球菌为Ⅱ型粗糙型菌落（ⅡR 型），无毒力，对小鼠无致死作用。Griffith 用ⅡR 型菌和ⅢS 型菌分别注射小鼠，前者存活，后者死亡（小鼠心血中可分离到ⅢS 型菌）；若将加热灭活的ⅢS 型菌注射，则小鼠存活；若将灭活的ⅢS 型菌与活的ⅡR 型菌混合后注射小鼠，则小鼠死亡，并可从死鼠的心血中分离出ⅢS 型菌（图 4-4）。1944 年 Avery 等用ⅢS 型菌 DNA 代替灭活的ⅢS 型菌重复上述试验，获得同样结果，并在死鼠心血中分离到ⅢS 型菌。结果证实：ⅡR 型活菌可从Ⅲ S 型死菌获得编码荚膜的遗传物质，转化为ⅢS 型菌。

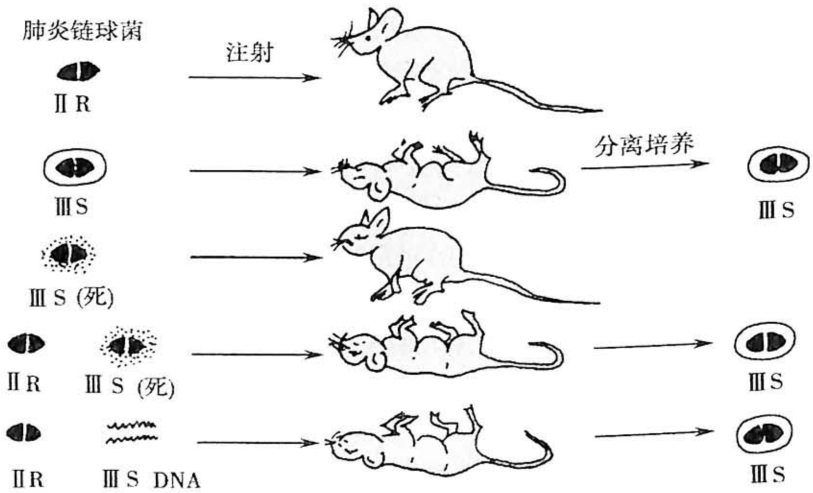


图 4-4 肺炎链球菌的转化试验

细菌的自然转化感受态不常见，只有某些菌在生长周期的特定期间，方可摄取转化因子，可发生转化。转化的基本过程为转化因子吸附于受体细胞上，其 dsDNA 中的一条链被降解消化，另一条互补链进入细胞，进入的单链 DNA 片段与受体菌染色体的同源部位发生重组，形成异源双链区。随着染色体复制、细胞分裂后产生两个子细胞，一个保持原受菌的性状，另一个则成为带有供体菌性状的**转化型细菌**。

转化可受以下因素影响：①供、受体菌的基因型：两菌的亲缘关系愈近，其基因型愈相似，转化率愈高。在转化过程中，能转化的 DNA 片段的分子量要小于 1×10^7，最多不超过 10~20 个基因。②受菌的生理状态：在转化过程中，转化的 DNA 片段称为转化因子，受体菌只有在感受态的生理状态下才能摄入转化因子。感受态细菌表面带正电荷，且发生细胞膜通透性增高等改变，均有利于细胞对转化因子的摄取。不同细菌的感受态出现的时间不同，持续时间也不同。如肺炎链球菌感受态出现在对数生长期的后期，可维持 40 分钟。③环境因素：Ca^{2+}、Mg^{2+}、cAMP 等可维持 DNA 的稳定性，促进转化作用。

细菌的感受态也可通过**人工诱导**，如将生长期的大肠埃希菌用低渗的氯化钙溶液处理，然后移至 42℃下作短暂的热激活，可促进细菌对外源性 DNA 的吸收（可能是钙离子引起细胞壁改变，易使外源性 DNA 黏着在菌体表面，形成能抗御 DNA 酶的复合物而被细菌吸收） 细菌转化在遗传分子生物学研究中是非常有用的技术。

二、接 合

笔记

细菌通过性菌毛相互连接沟通，将遗传物质从供体菌转给受体菌的方式称为**接合**（conjugation）。

质粒是最常被转递的遗传物质。能通过接合方式转移的质粒称为**接合性质粒**，主要包括 F 质粒、R 质粒等。

通过接合可以转递包括毒力相关基因、代谢性基因、耐药基因等特性。

1. F 质粒（fertility plasmid）　F 质粒又称**致育因子**（fertility factor），**编码性菌毛**，相当于**雄性菌**（F^+），接合时作为供体菌；无性菌毛的菌株相当于**雌性菌**（F^-），接合时作为受体菌。在合适条件下，将 F^+ 菌和 F^- 菌混合培养，F^+ 菌性菌毛与 F^- 菌表面受体接合，使两菌之间形成通道，F 质粒 DNA 的传递自 *orit* 开始，在 *orit* 位点单链切割，缺口链在 5′ 端的引导下通过性菌毛接合桥进入 F^- 菌内，两菌内的单链 DNA 以滚环式进行复制，各自形成完整的双链 F 质粒。这种 DNA 转移的速度较快，整个过程仅需 1 分钟。受体菌获得 F 质粒后即成为 F^+ 菌（图 4-5a），长出性菌毛。

F 质粒可游离在细胞质中，亦可整合到细菌的染色体上，引起宿主菌染色体发生高频转移至 F^- 菌，称为**高频重组株**（high frequency recombinant，Hfr）。Hfr 也有性菌毛，当与 F^- 菌接合时，Hfr 的染色体起始转移位点双链断成单链，引导染色体经性菌毛接合桥进入 F^- 菌，F 质粒的部分最后进入受体菌，全部染色体转移需 100 分钟。由于细菌间的接合桥不稳定，接合过程随时会被中断，故在 Hfr 菌接合转移中，可出现不同长度供体菌的染色体片段进入受体菌进行重组。位于先进入的基因呈高频转移，位于其后基因的转移频率逐渐降低。由于 F 质粒位于染色体链的末端，往往最后进入受体菌，因此受体菌获得 Hfr 菌的完整 F 质粒 DNA 的几率很低（图 4-5b，c）。通过间断交配实验（interrupted mating），根据 Hfr 转移过程中各基因进入受体菌（F^-）的时间，可绘制供体菌染色体的基因排序图。F 质粒在 Hfr 菌中的整合作用是可逆的，F 质粒有时会从 Hfr 菌的染色体上脱离，终止 Hfr 状态。从染色体上脱离的 F 质粒还会携带相邻的染色体 DNA 片段，称为 **F′ 质粒**。如 F′ lac 质粒，可通过接合方式转移到不发酵乳糖的菌株中，使该菌获得发酵乳糖的性状。

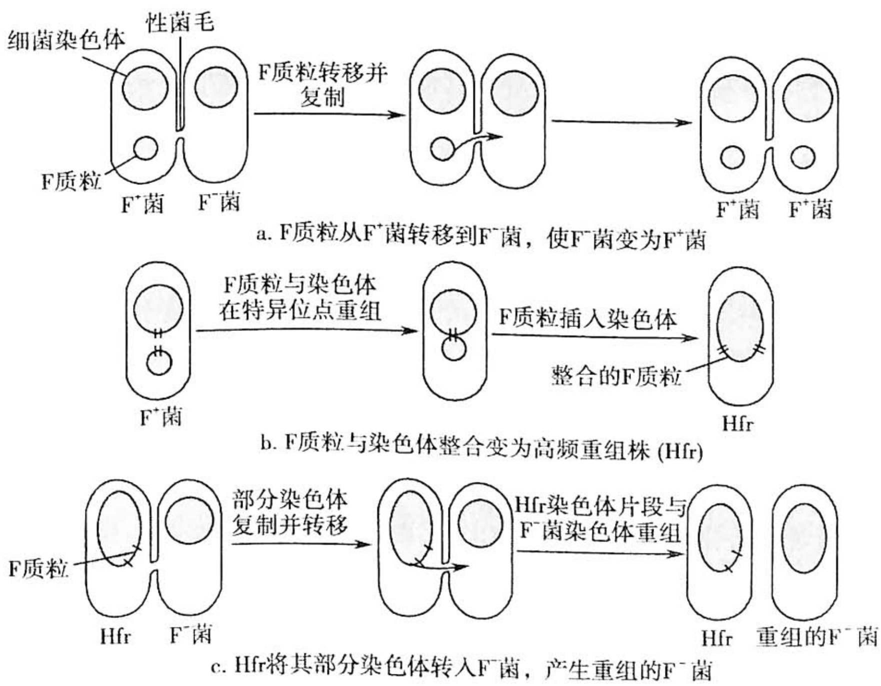


图 4-5　F 质粒的接合

（引自钱利生．医学微生物学．上海：复旦大学出版社，2003）

细菌接合的过程相当复杂，**接合性质粒**携带 *tra* 基因簇（*tra* and *trb* locus），33kb，编码约 40 个基因，参与 F 质粒接合转移的全部功能：①表面排斥，使 F 质粒不会转移至 F^+ 菌；②性菌毛的合成和组装；③维持细菌接合配接时的稳定性；④切割解旋 DNA，并促使转移链进入受体菌。

笔记

有些接合性质粒还可介导非接合性质粒（不能自我接合传递的质粒）或部分染色体的传递（mobilization），如 F 质粒编码的性菌毛为非接合性质粒提供接合功能。

2. R 质粒（resistant plasmid） 接合性耐药质粒在细菌耐药性转递中作用受到关注。1959 年，日本学者将具有多重耐药性的大肠埃希菌与敏感的志贺菌混合培养，发现多重耐药性可由大肠埃希菌传给志贺菌，首次证明了 **R 质粒**的接合性传递功能。在健康人中分离到的大肠埃希菌，含 R 质粒的菌株占 30%~50%，而致病性大肠埃希菌则高达 90%。R 质粒由**耐药传递因子**（resistance transfer factor，RTF）和**耐药决定子**（resistance determinant，r-det）组成。RTF 的功能与 F 质粒相似，编码性菌毛，决定质粒的复制、接合及转移；r-det 则决定菌株的耐药性。RTF 和 r-det 可整合在一起，也可单独存在，但单独存在时无接合传递耐药基因的功能。r-det 可带有多个不同耐药基因的转座子，如 Tn9、Tn4 和 Tn5 组成的 r-det，携带氯霉素、氨苄西林、链霉素、磺胺、卡那霉素、博来霉素和链霉素等耐药基因（图 4-6），从而使细菌出现多重耐药性。

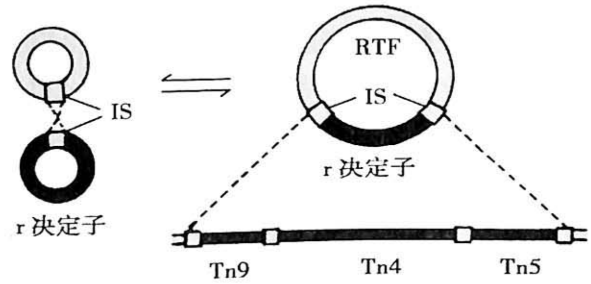


图 4-6 R 质粒结构

接合性耐药质粒（R 质粒）通过接合方式可以在同种属或不同种属间传递，在革兰阴性菌中最为突出；同时 R 质粒还可以诱导非接合性耐药质粒的传递，从而导致细菌耐药性的迅速传播，耐药菌株不断增加，给感染性疾病的临床用药带来极大的困难，因此 R 质粒又被称为**传染性耐药因子**。

三、转 导

转导（transduction）是由噬菌体介导，将供体菌的 DNA 片段转入受体菌，使受体菌获得供体菌的部分遗传性状。转导可分为**普遍性转导**和**局限性转导**。

1. 普遍性转导 毒性噬菌体和温和噬菌体均可介导**普遍性转导**（general transduction）。在噬菌体成熟装配过程中，由于装配错误，误将宿主（供菌）染色体片段或质粒装入噬菌体内，产生一个**转导噬菌体**（transducing phage）。当其感染其他细菌时，便将供体菌 DNA 转入受体菌（图 4-7）。大约每 10^5~10^7 次装配中会发生一次错误，且包装是随机的，**任何供体菌 DNA 片段都有可能被误装入噬菌体内，故称为普遍性转导**。普遍性转导可产生两种结果：一种是供体菌 DNA 片段通过同源重组整合至受体菌染色体，随染色体复制而稳定遗传，称为**完全转导**。另一种是供体菌的 DNA 游离在细胞质中，不能自身复制，也不能传代，称为**流产转导**（abortive transduction）。

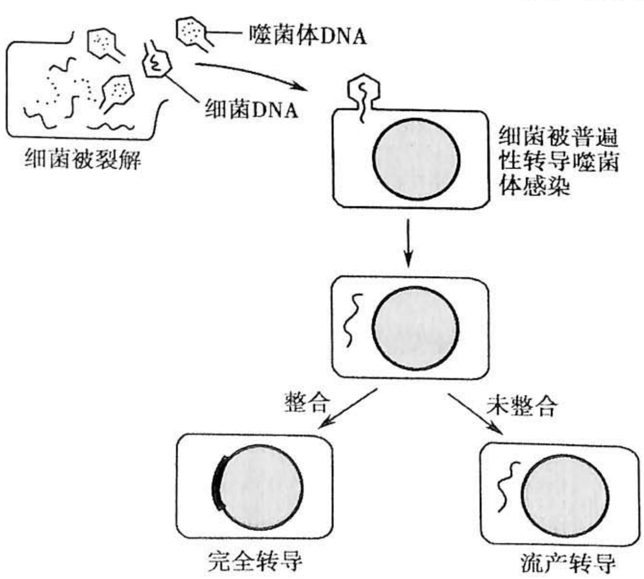


图 4-7 普遍性转导模式图

普遍性转导是金黄色葡萄球菌中耐药传递的主要方式，由于噬菌体有宿主特异性，故耐药性转导的现象仅发生在同种细菌之间。

2. 局限性转导 局限性转导（restricted transduction）由**温和噬菌体**介导。溶原期噬菌体 DNA 整合在细菌染色体上形成**前噬菌体**。前噬菌体从宿主菌染色体上脱离时发生偏差，带有宿主菌染色体基因的前噬菌体脱落后经复制、转录和翻译后组装成转导噬菌体。这种转导

笔记

噬菌体再感染受体菌时，可将供体菌基因带入受体菌。例如λ温和噬菌体能整合在大肠埃希菌染色体的半乳糖苷酶基因（*gal*）与生物素基因（*bio*）之间，在脱离时约有10^6几率可能发生偏差，带走其两侧的*gal*或*bio*基因，并转入受体菌（图4-8）。由于被转导的基因只限于前噬菌体两侧的供体菌基因，如*gal*或*bio*，故称局限性转导。因噬菌体有宿主特异性，故转导现象仅发生在同种细菌之间。

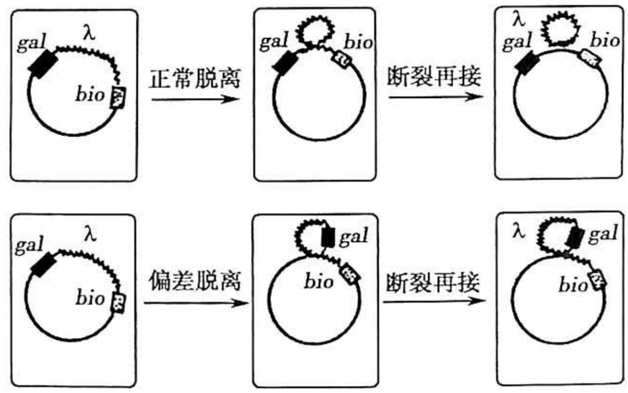


图4-8　局限性转导模式图

四、溶原性转换和原生质体融合

溶原性转换（lysogenic conversion）也是局限性转导的一种形式。**宿主菌在温和噬菌体感染后，以前噬菌体形式与细菌基因组整合，使宿主菌成为溶原性细菌**，从而获得由噬菌体基因编码的某些性状。例如**β棒状杆菌噬菌体携带编码白喉毒素基因** *tox*，白喉棒状杆菌无毒株后感染该噬菌体后成为溶原性细菌，便可获得产生白喉毒素的能力。若用抗噬菌体血清等方法使β噬菌体消除，则白喉棒状杆菌的产毒能力消失。同样，**A群链球菌的红疹毒素、金黄色葡萄球菌的α溶血毒素和肠毒素**A、**肉毒梭菌的**C、D**毒素**等均来自溶原性转换。若这些溶原性细菌失去了相应的前噬菌体，则其获得的产生相应毒素的性状也随之消失。

原生质体融合（protoplast fusion）是将两种不同细菌经溶菌酶或细胞壁合成抑制剂如青霉素等处理，使之失去细胞壁后置于高渗培养基中，保持原生质体状态，混合后在融合剂如聚乙二醇作用下促使两种原生质体间的融合。融合后的双倍体细胞可以短期生存，在此期间染色体之间可以发生基因的交换和重组，获得多种不同表型的重组融合体，经培养后重新形成细胞壁，再通过遗传标志或表型筛选重组菌。原生质体融合技术适用于原不具备基因水平转移特性的同种或异种细菌间基因的转移和重组。

第四节　细菌遗传变异在医学上的实际意义

1. 细菌形态结构的变异与细菌学诊断　细菌的形态、大小和结构受外界环境因素或基因突变的影响可发生变异，细菌可以失去其典型特性，如在菌落形态、鞭毛、抗原性等方面发生变化。伤寒患者中分离出的伤寒沙门菌，约10%的菌株因变异而失去鞭毛（H-O变异），细菌学检查时无动力，患者血清中无抗鞭毛抗体。细菌在β-内酰胺类抗生素、抗体、补体和溶菌酶等作用下，会失去细胞壁变为L型细菌，用常规方法分离培养呈阴性，必须用含血清的高渗培养基进行分离培养。又如分解乳糖的基因转移至沙门菌，可出现能够分解乳糖的伤寒沙门菌，如按常规细菌鉴定易被忽视，因此需充分了解细菌的变异现象和规律，才能正确诊断细菌性感染疾病。

随着分子生物学技术发展，选取细菌保守、稳定、具有种特异性的基因组片段，利用PCR和测序等快速诊断方法进行细菌鉴定，可用于不易培养或生长缓慢细菌的鉴定。

2. 细菌的耐药变异与控制　从抗生素广泛应用以来，耐药性细菌不断增加而引起关注。以金黄色葡萄球菌为例，对青霉素、磺胺类药等的耐药菌株高达90%以上。目前，**耐甲氧西林金黄色葡萄球菌**（methicillin resistant staphylococcus aureus，MRSA）亦逐年上升，在我国已达70%以上。在肠道感染细菌中，出现耐多种抗菌药物的菌株。细菌的耐药性变异和播散给临床治疗带来很大的麻烦。为了提高抗菌药物的疗效，防止耐药菌株的扩散，常用药物敏感试验选择敏感抗生素。临床上通过耐药监测，注意耐药谱的变化和耐药机制的研究，将有利于指导抗菌药物的选

笔记

择和合理使用，降低耐药性突变和防止耐药菌的扩散。

3. 细菌毒力变异与疾病控制 细菌的变异包括毒力的增强与减弱。利用毒力减弱而保留免疫原性的菌株研制减毒活疫苗，现已成功地用于某些细菌性疾病的预防。如炭疽芽胞杆菌的减毒活疫苗用于炭疽病的预防；**卡介苗**(bacillus of Calmette Güerin，BCG)用于结核病的预防；布鲁氏菌和鼠疫耶尔森菌的减毒活疫苗也均已用于预防布鲁氏菌病和鼠疫。随着细菌全基因组测序工作的推进，通过比较基因组学分析，将可进行定点突变，靶向性地降低细菌毒力而保留其免疫原性，且回避毒力回复突变的可能性，研制出更理想的有效疫苗。

此外，细菌鉴定时，也应考虑和检测细菌毒力，或细菌毒力因子的表达等。

4. 流行病学分析方面的应用 将分子生物学的分析方法应用于分子流行病学调查，从追踪传染源或相关基因的转移和播散，尤具独特的优势。基于核酸分析法方法，如脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis，PFGE)、质粒谱分析、PCR 产物 - 限制性片段多态性分析(RFLP)、核酸序列分析等方法的应用，从而有助于确定感染流行菌株或基因的来源，或调查医院内耐药质粒在不同细菌中的播散情况。

5. 检测致癌物物质方面的应用 基因突变可由化学诱变剂引起，凡能诱导细菌突变的物质也可能诱发人体细胞的突变，是潜在的致癌物质。因此细菌可用于筛选可疑致癌物。**Ames 试验**(图 4-9)是根据致细菌突变试验检测致癌物质的原理设计的。利用鼠伤寒沙门菌的**组氨酸营养缺陷型**(his^-)作为试验菌，测试可疑诱变剂。his^-菌在组氨酸缺乏的培养基上不能生长，若 his^-菌在可疑诱变剂作用下回复突变为 his^+ 菌，则能在无组氨酸的培养基上生长。比较含有可疑诱变剂平板与不含无诱变剂平板上的菌落数，凡能提高突变率、使试验平板的诱导菌落数高出对照组一倍时，即为 Ames 试验阳性，即证明被检物有致癌的潜能。

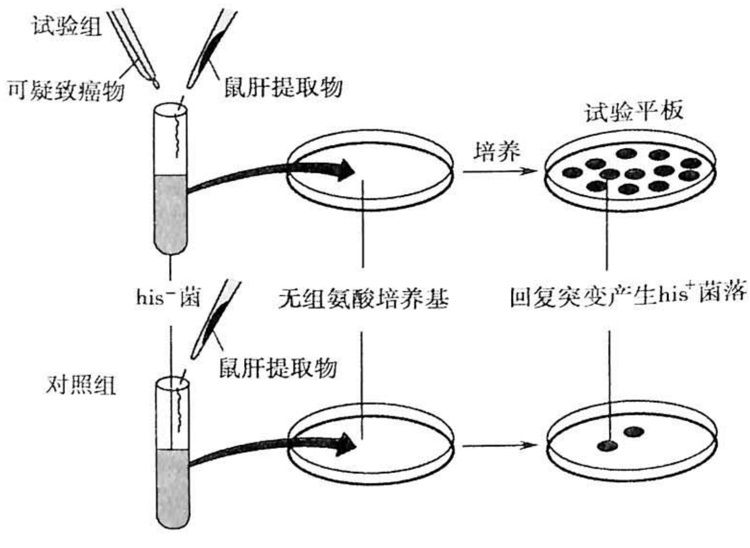


图 4-9 Ames 试验

(引自钱利生. 医学微生物学. 上海：复旦大学出版社，2003)

6. 基因工程方面的应用 **基因工程**(gene engineering)是一种 DNA 体外重组技术，其基本过程是在生物体外用人工方法将目的基因重组于载体(质粒或噬菌体)上，通过载体将目的基因转入受体细胞，使受体细胞表达出目的基因的性状。基因工程最大的特点和优点就是打破了生物种属间的界限，使微生物、动植物甚至人类之间的遗传物质可以相互转移和重组，人类可根据需要，选择不同的目的基因，在细菌中表达后供人类使用。目前许多不易从天然生物体内大量获取的生物活性物质，如胰岛素、白介素、干扰素、生长激素、凝血因子等都可采用基因工程大量生产。基因工程疫苗的研制也取得了一定的进展，对疾病的特异性防治起积极的推动作用。

(瞿 涤)

笔记

第五章　细菌的耐药性

感染性疾病的治疗主要依赖**抗菌药物**(antibacterial agent),抗菌药物使许多威胁生命的感染性疾病有了特效的治疗。抗菌药物指具有抑菌和(或)杀菌活性、用于预防和治疗细菌性感染的药物,包括**抗生素**(antibiotics)和化学合成的药物。**抗生素指对特异微生物有杀灭和抑制作用的微生物产物,分子量较低,低浓度时就能发挥其生物活性,有天然和人工半合成两类**。然而,随着抗菌药物的广泛应用,**细菌耐药性**日趋严重和普遍,而且细菌的**多重耐药性**增加、致病力增强。显然,阐明细菌耐药性的机制,寻找对耐药菌具有高效、低毒、药理性能好的抗菌药物已成为当代医学研究的重点内容。

第一节　抗菌药物的种类及其作用机制

一、抗菌药物的种类

抗菌药物的分类方法很多,包括:按产生抗菌药物的微生物分类,按**化学结构和性质**分类,按抗菌谱分类或按作用机制分类等。

(一) 按抗菌药物化学结构和性质分类

1. **β-内酰胺类**(β-lactam)　所有 **β-内酰胺类抗生素**的化学结构中都含有 **β-内酰胺环**。β-内酰胺类抗生素包括的种类较多,该分子侧链的改变形式多样,形成了抗菌谱不同及临床药理学特性各异的多种不同抗生素。

(1) 青霉素(penicillin)类:包括青霉素G、苯氧青霉素、耐酶青霉素(甲氧西林、苯唑西林)和广谱青霉素(氨苄西林、阿莫西林、替卡西林等)。

(2) 头孢菌素(cephalosporin)类:根据抗菌谱和对革兰阴性菌的抗菌活性不同,头孢菌素分为三代:第一代主要用于产青霉素酶的金黄色葡萄球菌和某些革兰阴性菌的感染,如头孢唑林、头孢氨苄、头孢拉定;第二代对革兰阴性菌的作用较第一代增强,如头孢呋辛、头孢孟多等;第三代对多种 β-内酰胺酶稳定,对革兰阴性菌和铜绿假单胞菌有良好的作用,如头孢他啶、头孢曲松、头孢哌酮等。

(3) 头霉素:如头孢西丁(也称头霉甲氧噻吩)。

(4) 单环 β-内酰胺类:如氨曲南、卡卢莫南。

(5) 碳青霉素烯类:如亚胺培南,亚胺培南与西司他丁合用称为泰能。

(6) β-内酰胺酶抑制剂:如克青霉烷砜(也称舒巴坦)、拉维酸(也称棒酸)等具有弱的抗菌活性,能与 β-内酰胺酶发生不可逆的反应后使酶失活。

2. **大环内酯类**(macrolide)　包括红霉素、螺旋霉素、罗红霉素、交沙霉素、阿奇霉素等。

3. **氨基糖苷类**(aminoglycoside)　包括链霉素、庆大霉素、卡那霉素、妥布霉素、阿米卡星等。

4. **四环素类**(tetracycline)　包括四环素、多西环素、米诺环素等。

5. **氯霉素类**(chloramphenic)　包括氯霉素、甲砜霉素。

6. **化学合成的抗菌药物**　主要有:①磺胺类:磺胺嘧啶(SD)、磺胺甲噁唑(SMZ)、甲氧苄啶(TMP),复方磺胺甲噁唑(SMZco)等。②喹诺酮类(quinolone):包括诺氟沙星、环丙沙星、氧氟沙星、依诺沙星、培氟沙星、洛美沙星等。

7. **其他**　抗结核药物包括利福平、异烟肼、乙胺丁醇、吡嗪酰胺等。多肽类抗生素包括多粘

笔记

菌素类、万古霉素、杆菌肽、林可霉素和克林霉素等。

（二）按生物来源分类

1. 细菌产生的抗生素 如多粘菌素（polymyxin）和杆菌肽（bacitracin）。

2. 真菌产生的抗生素 如青霉素及头孢菌素，现在多用其半合成产物。

3. 放线菌产生的抗生素 放线菌是生产抗生素的主要来源。其中链霉菌和小单孢菌产生的抗生素最多。常见的抗生素包括链霉素、卡那霉素、四环素、红霉素、两性霉素 B 等。

二、抗菌药物的作用机制

抗菌药物必须对病原菌具有较强的选择性毒性作用（有效性和特异性），对患者不造成损害（安全性）。抗菌药物可以通过**影响细菌细胞壁的合成，影响细胞膜的功能，影响细菌细胞蛋白质的合成及影响核酸合成**等多种机制发挥作用。根据对病原菌的作用靶位，可将抗菌药物的作用机制分为四类（表 5-1）。了解抗菌药物的机制不但是研究细菌耐药性的基础，也是临床合理选用抗菌药物的前提。

表 5-1 抗菌药物的主要作用部位

细胞壁	细胞膜渗透性	细胞蛋白质合成	核酸合成
B－内酰胺类	多粘菌素类	氯霉素	磺胺药
万古霉素	两性霉素 B	四环素类	甲氧苄胺嘧啶
杆菌肽	制霉菌素	红霉素	利福平
环丝氨酸	酮康唑	林可霉素类	喹诺酮类
		氨基糖苷类	

1. 干扰细菌细胞壁的合成 细菌（支原体除外）具有细胞壁，革兰阳性和革兰阴性细菌细胞壁的组成虽有不同，但其主要组分均有肽聚糖。**β－内酰胺类抗生素主要抑制肽聚糖合成所需的转肽酶反应，可阻止肽聚糖链的交叉连接，使细菌无法形成坚韧的细胞壁**。细菌一旦失去细胞壁的保护作用，在相对低渗环境中会变形、裂解而死亡。β－内酰胺类抗生素可与细胞膜上的**青霉素结合蛋白**（penicillin-binding protein，PBP）共价结合。该蛋白质是青霉素作用的主要**靶位**，当 PBPs 与青霉素结合后，导致了肽聚糖合成受阻。可以抑制转肽酶活性，使细菌的细胞壁形成受阻。

2. 损伤细胞膜的功能 有两种机制：①某些抗生素分子（如多粘菌素类）呈两极性，其亲水性端与细胞膜的蛋白质部分结合，亲脂性端与细胞膜内磷脂相结合，导致细菌胞膜裂开，胞内成分外漏，细菌死亡。②两性霉素 B 和制霉菌素能与真菌细胞膜上的固醇类结合，酮康唑抑制真菌细胞膜中固醇类的生物合成，均导致细胞膜通透性增加。细菌细胞膜缺乏固醇类，故作用于真菌的药物对细菌无效。

3. 影响蛋白质的合成 抗生素多可影响细菌蛋白质的合成，其作用部位及作用时段各不相同。氨基糖苷类及四环素类主要作用于细菌核糖体的 30S **亚单位**，氯霉素、红霉素和林可霉素类则主要作用于 50S **亚单位**，导致细菌蛋白质合成受阻。

4. 抑制核酸合成 抗生素可通过影响细菌核酸合成发挥抗菌作用。如利福平与依赖 DNA 的 RNA 聚合酶结合，抑制 mRNA 的转录。喹诺酮类药物可作用于细菌 DNA 旋转酶而抑制细菌繁殖。磺胺类药物与对氨基苯甲酸（PABA）的化学结构相似，二者竞争二氢叶酸合成酶，使二氢叶酸合成减少，影响核酸的合成，抑制细菌繁殖。甲氧苄啶（TMP）与二氢叶酸分子中的蝶啶结构相似，能竞争抑制二氢叶酸还原酶，使四氢叶酸的生成受到抑制。因此，TMP 与磺胺药合用（如复方磺胺甲噁唑）有协同作用。

掌握抗菌药物的分类和作用机制对于理解细菌的耐药和防治具有重要意义。

笔记

第二节　细菌的耐药机制

耐药性(drug resistance)**亦称抗药性，是指细菌对某抗菌药物(抗生素或消毒剂)的相对抵抗性**。通常某菌株能被某种抗菌药物抑制或杀灭，则该菌株对该抗菌药物敏感；反之，则为耐药。耐药性的程度用某药物对细菌的**最小抑菌浓度**(MIC)表示。临床上当某抗菌药物对某菌株的MIC小于该抗菌药物的治疗浓度，则为敏感；抗菌药物对某菌株的MIC大于该抗菌药物的治疗浓度，则为耐药。具有耐药性的细菌称为耐药菌株，耐药菌株对特定抗菌药物的作用不敏感，使药物不能达到预期的临床杀菌或抑菌效果。

流行病学资料显示，在医院临床和社区，细菌耐药性普遍存在。现在细菌耐药具有如下特点：耐药性形成快；细菌耐药谱广；细菌耐药性传播速度快；耐药强度高。细菌的耐药可导致医院内感染增加，加大细菌性感染和传染病的防控难度。

产生耐药性有内因和外因两种因素：内因指遗传因素；外因包括医疗过程中滥用抗生素、饲料中滥加抗生素和消毒剂的不合理应用等。细菌耐药机制的研究涉及细菌的结构、生理代谢、生物化学、遗传学、药理学和分子生物学等多个学科，耐药机制的研究已深入到分子水平。

一、细菌耐药的遗传机制

(一) 固有耐药性

固有耐药性(intrinsic resistance)**指细菌对某些抗菌药物的天然不敏感，亦称为天然耐药性细菌**。细菌固有耐药性来源于细菌本身染色体上的耐药基因，来自亲代的代代相传，具有典型的**种属特异性**。如多数革兰阴性杆菌耐万古霉素和甲氧西林，肠球菌耐头孢菌素等。固有耐药性始终如一并可预测。例如：细菌的细胞膜缺乏两性霉素B**药物的靶位**固醇类，故其对两性霉素B具有固有耐药性。同样，革兰阴性细菌具有外膜通透性屏障，导致这类细菌对多种药物固有耐药。

(二) 获得耐药性

获得耐药性(acquired resistance)**指细菌DNA的改变导致其获得了耐药性表型**。耐药性细菌的耐药基因来源于**基因突变**或**获得新基因**，作用方式为接合、转导或转化。可发生于染色体DNA、质粒、转座子等结构基因，也可发生于某些调节基因。正常情况下，在原先对药物敏感的细菌群体中出现对抗菌药物的耐药性，这是获得耐药性与固有耐药性的重要区别。

影响细菌获得耐药性发生率的三个因素有：药物使用的剂量、细菌耐药的自发突变率和耐药基因的转移状况。

1. 染色体突变(chromosomal mutation)　所有的细菌群体都会经常发生自发的随机突变，只是频率很低，其中有些突变可赋予细菌耐药性。

2. 可传递的耐药性(transferable antibiotic resistance)　**耐药基因能在质粒、转座子和整合子等可移动的遗传元件介导下进行转移并传播。**

(1) **R质粒的转移**：在革兰阳性和革兰阴性细菌中广泛存在耐药质粒，**质粒介导的耐药性传播在临床上占有非常重要的地位**。多数细菌的质粒具有传递和遗传交换能力，细菌质粒能在细胞中自我复制，并随细菌分裂稳定地传递给后代，能在不同细菌间转移。在体内，质粒能编码多种酶，对多数抗生素进行生化修饰而使之钝化。**一种质粒可带数种耐药性基因群，通过细菌间接合、转化作用而将耐药质粒转移到细菌群中**，由多重耐药菌株所致的感染给临床治疗带来极大的困难。质粒传播耐药性为最常见的方式，但其宿主范围有某种限制，尚未发现可在革兰阳性和革兰阴性菌中都能复制的质粒。

(2) **转座子介导的耐药性：转座子**(transposon，Tn)又名跳跃基因，是比质粒更小的DNA片段，

笔记

它可以在染色体中跳跃移动，实现细菌间的基因转移或交换，使结构基因的产物大量增加，使宿主细胞失去对抗菌药物的敏感性。

(3) **整合子**(integron)：整合子是移动性DNA序列，它可捕获外源基因并使之转变为**功能性基因的表达单位**。整合子在细菌耐药性的传播和扩散中起到了至关重要的作用。在同一类整合子上可携带不同的耐药基因盒，同一个耐药基因又可出现在不同的整合子上。

(三) 多重耐药性

多重耐药性(multiple drug resistance，MDR)指细菌同时对多种作用机制不同或结构完全各异的抗菌药物具有耐药性。具体指某一种微生物对三类(如氨基糖苷类、红霉素、B-内酰胺类)或三类以上抗菌药物同时耐药的病原菌称为多重耐药菌(multiple resistant bacterium)。

交叉耐药性(cross resistance)是细菌对某一种抗菌药物产生耐药性后，对其他作用机制相似的抗菌药物也产生耐药性。

泛耐药菌(pan-drug resistant bacterium)指对除黏菌素外的所有临床上可获得的抗生素均耐药的非发酵菌，包括假单胞菌属、不动杆菌属、窄食单胞菌属等。泛耐药菌株表现为对常规药敏试验的药物均耐药。

细菌的耐药基因可以在不同的整合子中移动，在医院细菌中播散多重耐药，介导多重耐药菌的形成。临床上把对几乎所有的抗生素都有强劲的耐药性的一类细菌通称**超级细菌**(superbug)，包含多重耐药菌和泛耐药菌。当前国际上重要的耐药菌有：①耐甲氧西林金葡菌(MRSA)；②耐万古霉素的肠球菌(VRE)；③耐克林霉素和头孢菌素的厌氧菌；④耐氨苄的流感嗜血杆菌；⑤耐青霉素的奈瑟菌，⑥耐青霉素的肺炎球菌(PRP)；⑦多重耐药结核菌(MDR-TB)；⑧产ESBL大肠埃希菌和克雷伯菌；⑨产AmpC酶肠杆菌、枸橼酸杆菌、沙雷菌；⑩多重耐药非发酵菌：铜绿假胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌。

二、细菌耐药的生化机制

细菌耐药的生化机制包括：**钝化酶的产生、药物作用靶位的改变、抗菌药物的渗透障碍、主动外排机制**和**细菌自身代谢状态改变等**。

(一) 钝化酶的产生

钝化酶(modified enzyme)指由耐药菌株产生、具有**破坏或灭活抗菌药物活性的一类酶**，它通过水解或修饰作用破坏抗生素的结构使其失去活性，如分解青霉素的酶或改变氨基糖苷类抗生素结构的酶，重要的钝化酶有以下几种：

1. **β-内酰胺酶**(β-lactamase) 对青霉素类和头孢菌素类耐药的菌株可产生**β-内酰胺酶**，该酶**能特异性地打开药物分子结构中的β-内酰胺环，使其完全失去抗菌活性**，故称**灭活酶**(inactivated enzyme)。β-内酰胺酶可由细菌染色体或质粒编码。当前，在革兰阴性杆菌中，对β-内酰胺抗生素的耐药性主要由两种β-内酰胺酶介导：**超广谱β-内酰胺酶**(extended spectrum β-lactamases，ESBL)和AmpC **β-内酰胺酶**。已发现AmpC型β-内酰胺酶基因位于**可传递的质粒上**，可持续产酶，并与质粒上其他耐药基因组合在一起形成多重耐药菌株并导致耐药性传播。

2. **氨基糖苷类钝化酶**(aminoglycoside-modified enzymes) 细菌能产生30多种氨基糖苷类钝化酶，并均由质粒介导。这些酶类分别通过羟基磷酸化、氨基乙酰化或羧基腺苷酰化作用，使药物的分子结构发生改变，失去抗菌作用。由于氨基糖苷类抗生素结构相似，故常出现明显的交叉耐药现象。

3. **氯霉素乙酰转移酶**(chloramphenicol acetyl transferase，CAT) 此酶由质粒编码产生，可使氯霉素乙酰化使之失去抗菌活性。

(二) 药物作用靶位的改变

笔记

细菌能改变**抗生素作用靶位**的蛋白结构和数量，导致其与抗生素结合的有效部位发生改

变，影响药物的结合，使细菌对抗生素不再敏感。这种改变使抗生素**失去作用靶点和（或）亲和力降低**，但细菌的生理功能正常。如青霉素结合蛋白的改变导致对 β－内酰胺类抗生素耐药。

（三）抗菌药物的渗透障碍

抗生素必须进入细菌内部到达作用靶位后，才能发挥抗菌效能。细菌的**细胞壁障碍和（或）外膜通透性的改变**，将严重影响抗菌效能，耐药屏蔽也是耐药的一种机制。又如细胞膜上微孔缺失时，亚胺培南不能进入胞内而失去抗菌作用。铜绿假单胞菌对抗生素的通透性要比其他革兰阴性细菌差，这是该菌对多种抗生素固有耐药的主要原因之一。

（四）主动外排机制

已发现数十种细菌的外膜上有特殊的**药物主动外排系统**，药物的主动外排使菌体内的药物浓度不足，难以发挥抗菌作用而导致耐药，主动外排耐药机制与细菌的多重耐药性有关。细菌的分泌系统具有外排功能，其结构与功能的改变与细菌的耐药性相关。

（五）细菌生物被膜作用及其他

细菌生物被膜（bacterial biofilm，BF）是细菌为适应环境而形成的，可保护细菌逃逸抗菌药物的杀伤作用。细菌生物被膜形成后耐药性可增强许多倍，其耐药机制是：①抗生素难以清除 BF 中众多微菌落膜状物；② BF 具有多糖分子屏障和电荷屏障，阻止或延缓药物的渗透；③ BF 内细菌多处于低代谢水平状态，对抗菌药物前敏感；④ BF 内部场存在一些较高浓度水解酶，使进入的抗生素失活。

此外，细菌可通过改变自身代谢状态逃避抗菌药物的作用，如呈休眠状态的细菌，或营养缺陷的细菌都可出现对多种抗生素耐药。细菌也可以通过增加产生代谢拮抗剂来抑制抗生素，从而获得耐药性，例如耐药金黄色葡萄球菌通过增加对氨基苯甲酸的产量，从而耐受磺胺类药物的作用。

第三节　细菌耐药性的防治

1. 合理使用抗菌药物　教育医务工作者和患者规范化用药，患者用药前应尽可能进行病原学检测并进行药敏试验，作为调整用药的参考。用药疗程应尽量缩短，一种抗菌药物可以控制的感染则不应采用多种药物联合。严格掌握抗菌药物的局部应用、预防应用和联合用药对象，避免滥用。制定抗生素用药常规，作为临床选用抗菌药物的参照。

2. 严格执行消毒隔离制度　对耐药菌感染的患者应予隔离，防止耐药菌的交叉感染。医务人员应定期检查带菌情况，以免医院内感染的传播。

3. 加强药政管理　①加强细菌耐药性的检测，建立细菌耐药监测网，掌握本地区、本单位重要致病菌和抗菌药物的耐药性变迁资料，及时为临床提供信息。②制定抗菌药物凭处方供应规定。③农牧业应尽量避免使用供临床应用的抗菌药物作为动物生长促进剂或用于牲畜疾病的治疗，以避免对医用抗菌药物产生耐药性。④细菌耐药性一旦产生后，在停用有关药物一段时期后敏感性有可能逐步恢复。

4. 研制新的抗菌药物　根据细菌耐药性的机制及其与抗菌药物结构的关系，寻找和研制具有抗菌活性，尤其对耐药菌有活性的新型抗菌药物；同时针对耐药菌产生的钝化酶，寻找有效的酶抑制剂。

5. 破坏耐药基因　随着细菌基因组研究的进展，学者们发现通过破坏耐药基因可使细菌恢复对抗菌药物的敏感性。耐药性质粒在细菌耐药性的产生和传播方面占有重要的地位，可研发用于人体的防止耐药性转移的药物。

（楚雍烈）

笔记

第六章　细菌的感染与免疫

细菌的感染(bacterial infection)是指细菌侵入宿主体内生长繁殖并与机体相互作用,引起的一系列病理变化过程。引起宿主感染的细菌称为**病原菌**(pathogen)或**致病菌**(pathogenic bacterium)。不能造成宿主感染的为**非致病菌**(nonpathogenic bacterium)或**非病原菌**(nonpathogen)。病原菌从一个宿主到另一宿主体内并引起感染的过程称为**传染**(infection or communication)。有些细菌在正常情况下并不致病,只有在某些特定情况下才可引起致病,这类细菌称为**机会致病菌**(opportunistic pathogen)或**条件致病菌**(conditioned pathogen)。

抗感染免疫是指微生物入侵宿主机体后,宿主免疫系统产生**抗感染免疫应答**,以抑制或避免微生物致病作用的过程。免疫系统的这一功能被称为**免疫防御**。在宿主抗感染免疫的压力下,微生物还会还会产生**免疫逃逸**现象,以逃避宿主的免疫防御功能。因此,微生物对机体的感染与机体对微生物的抗感染免疫,构成了一对基本矛盾。这一对矛盾力量的消长决定着疾病的发生、发展与结局。本章将从这对矛盾的解析来认识感染与免疫发展的规律。

第一节　正常菌群与机会致病菌

一、正常菌群

正常菌群(normal flora)是指正常寄居在宿主体内,对宿主无害而有利的微生物群的总称。人类生存于自然环境中,而自然界中又广泛存在着多种多样的微生物。因此,正常人的体表和与外界相通的腔道(如口腔、鼻咽腔、肠道、泌尿生殖道等)表面都寄居着不同种类和数量的微生物。表 6-1 列举了人体各部位常见的正常菌群。

表 6-1　人体常见的正常菌群

部位	主要菌类
皮肤	葡萄球菌、链球菌、类白喉棒状杆菌、铜绿假单胞菌、丙酸杆菌、白假丝酵母菌、非致病性分枝杆菌
口腔	葡萄球菌、甲型和丙型链球菌、肺炎链球菌、非致病性奈瑟菌、乳杆菌、类白喉棒状杆菌、放线菌、螺旋体、白假丝酵母菌、梭杆菌
鼻咽腔	葡萄球菌、甲型和丙型链球菌、肺炎链球菌、非致病性奈瑟菌、类杆菌
外耳道	葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、铜绿假单胞菌、非致病性分枝杆菌
眼结膜	葡萄球菌、干燥棒状杆菌、非致病性奈瑟菌
肠道	大肠埃希菌、双歧杆菌、产气肠杆菌、变形杆菌、铜绿假单胞菌、葡萄球菌、肠球菌、类杆菌、产气荚膜梭菌、破伤风梭菌、真杆菌、乳杆菌、白假丝酵母菌
尿道	葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、非致病性分枝杆菌
阴道	乳杆菌、类白喉棒状杆菌、非致病性奈瑟菌、白假丝酵母菌

(一) 正常菌群的生理作用

正常菌群与宿主间存在着相互依存的关系。目前已知正常菌群对宿主有以下生理学作用:

1. **生物拮抗**　寄居在宿主体内的正常菌群可以发挥**生物拮抗**(biological antagonism)的作用。正常菌群在宿主体内的正常寄居可以妨碍或抵御致病微生物的侵入与繁殖,对宿主起着保

笔记

护作用。这种作用是通过如下机制来实现的:①屏障和占位性保护作用。正常菌群在上皮细胞表面的生长繁殖形成了生物屏障,优先占领生存空间,妨碍或抑制外来致病菌的定植。②产生对病原菌有害的代谢产物。如人体内寄居的大量厌氧菌,可产生乙酸、丙酸、丁酸及乳酸等酸性产物,降低了环境中的 pH 与氧化还原电势,使不耐酸的细菌和需氧菌受到抑制;口腔中的链球菌以及阴道中的乳杆菌等可产生 H_2O_2,对其他细菌有抑制或杀伤作用。③营养竞争。一定生存环境中的营养资源是有限的。正常菌群的定植,优先利用了营养资源,大量繁殖而处于优势地位,不利于外来病原微生物的生长繁殖。

2. 营养作用　正常菌群在宿主体内,对宿主摄入的营养物质进行初步代谢、物质转化和合成代谢,形成一些有利于宿主吸收、利用的物质,甚至合成一些宿主自己不能合成的物质供宿主使用。如肠道内脆弱类杆菌和大肠埃希菌可产生维生素 K 和维生素 B 族;乳杆菌和双歧杆菌等可合成烟酸、叶酸及维生素 B 族等供人体利用。

3. 免疫作用　宿主的免疫系统有赖于抗原的刺激才能发育与成熟。正常菌群作为抗原可促进宿主免疫器官的发育,刺激免疫系统的成熟与免疫应答。产生的免疫物质对具有交叉抗原组分的致病菌有一定程度的抑制或杀灭作用。如双歧杆菌可诱导产生出 sIgA,sIgA 能与那些具有共同抗原的微生物发生免疫反应,以阻断它们对肠道黏膜上皮细胞的黏附和定植作用。

4. 抗衰老作用　研究表明,人一生的不同阶段,肠道正常菌群的构成与数量是不一样的,它们与人体的发育、成熟和衰老有着一定关联。例如儿童及青少年时期肠道的双歧杆菌、乳杆菌较老年时期为多,而到老年后,肠道的产气杆菌较多。这是肠道菌群与其环境(人体肠道)相互作用的结果。如人体肠道能够维持一个有利于机体健康的生态内环境,对人体的健康和长寿是有益的。

(二) 微生态平衡与失调

20 世纪 70 年代出现了一门新学科即微生态学(microecology)。它是从细胞水平或分子水平上研究微生物与宿主、环境三者之间相互关系的综合性学科。**医学微生态学**则是微生态学中重要的分支学科,主要研究寄居在人体表面和外界相通腔道黏膜表面的微生物与微生物、微生物与人体,以及微生物和人体与外界环境之间相互依存、相互制约的关系。

机体内的正常微生物群在种类及数量方面形成了某种相互可接受的常态模式。另外,正常微生物群还与它们存在的环境(即宿主)之间存在相互依赖与相互制约的状态。这种状态始终处于动态过程之中。只要这种动态过程不会引起疾病,就被称为**微生态平衡**(microeubiosis)。当宿主(免疫、营养及代谢等)、正常微生物群(种类、数量、位置等)或外界环境(理化和生物)等因素变化打破了微生态平衡,就会导致**微生态失调**(microdysbiosis),最常见的是**菌群失调**(dysbacteriosis)。在临床治疗工作中,诱发微生态失调的因素多见于不规范使用抗生素治疗、免疫抑制剂和肿瘤化疗药物,以及部分外科手术和插管等侵入性诊疗操作。

二、机会致病菌

当正常菌群与宿主间的生态平衡失调时,一些正常菌群会成为机会致病菌而引起宿主发病,故机会致病菌也称为条件致病菌。常见的情况主要有:

(一) 正常菌群的寄居部位改变

例如大肠埃希菌在肠道通常是不致病的,但如果从肠道进入泌尿道,或手术时通过切口进入腹腔、血流,亦可引发尿道炎、肾盂肾炎、腹膜炎甚至败血症等。

(二) 宿主免疫功能低下

应用大剂量皮质激素、抗肿瘤药物或放射治疗以及 AIDS 患者晚期等,可造成患者免疫功能降低。从而使一些正常菌群在原寄居部位能穿透黏膜等屏障,引起局部组织或全身性感染,严重者可因败血症而死亡。

笔记

(三) 菌群失调

在应用抗生素治疗感染性疾病的过程中，导致宿主某部位寄居细菌的种群发生改变或各种群的数量比例发生大幅度变化从而导致疾病称为**菌群失调**。菌群失调可表现为引起**二重感染或重叠感染**（superinfection）。这是指：用抗菌药物治疗某种原感染性疾病的过程中，又感染了另一种或多种病原体，表现为两种或两种以上病原体混合感染。这是因为长期或大量应用抗生素后，正常菌群被抑制或杀灭，而原处于数量劣势的菌群或外来耐药菌趁机大量繁殖而导致的感染。引起二重感染的常见细菌有金黄色葡萄球菌、白假丝酵母菌和一些革兰阴性杆菌。临床表现有假膜性肠炎、鹅口疮、肺炎、泌尿道感染或败血症等。

第二节 细菌的致病作用

细菌对宿主感染致病的能力又称为**致病性**（pathogenicity）。**毒力**（virulence）用于表示细菌致病性的强弱程度。一般常采用**半数致死量**（median lethal dose，LD_{50}）或**半数感染量**（median infective dose，ID_{50}）作为测定毒力的指标。**半数致死量**（LD_{50}）指在一定条件下能引起 50% 的实验动物死亡的微生物数量或毒素剂量。**半数感染量**（ID_{50}）是指能引起 50% 实验动物或组织培养细胞发生感染的微生物数量。微生物毒力越强，LD_{50} 或 ID_{50} 数值越小。

细菌的致病性是相对于宿主而言的。其与细菌的毒力、侵入的数量、侵入的部位以及集体的免疫力密切相关。一种细菌在某种宿主体内是强致病性的，但在另外一种宿主体内可能是弱致病性的甚至是无致病性的。

病原菌的毒力是由许多基因所决定的。这些致病性相关基因在病原菌的基因组内可以是散在存在的，也可以是簇集存在的。簇集存在的与细菌致病性相关的 DNA 序列称为**致病岛**（pathogenicity island，PAI）或**毒力岛**。毒力岛的 GC 平均含量往往偏离于细菌基因组的平均 GC 含量，提示细菌的毒力岛可能是通过水平转移获得的。

细菌的毒力建立在一定物质基础上，构成细菌毒力的物质基础主要包括侵袭力、毒素、体内诱生抗原、超抗原等。除这些毒性相关物质外，微生物感染时，还可能通过免疫病理损伤引起病变。下面将逐一介绍与致病相关的诸因素。

一、细菌的侵袭力

侵袭力（invasiveness）是指致病菌突破宿主皮肤、黏膜等生理屏障，进入机体并在体内定植和繁殖扩散的能力。细菌的侵袭力包括与黏附、定植和产生侵袭性相关物质的能力。与侵袭力有关的物质主要有黏附素、荚膜、侵袭素、侵袭性酶类和细菌生物被膜等。

(一) 黏附素

细菌要致病首先要黏附并定植在宿主皮肤、黏膜上皮细胞表面，然后才能侵入组织细胞生长繁殖并进行扩散。细菌的黏附需要基于两个必要条件，即**黏附素**（adhesin）和宿主细胞表面的**黏附素受体**。黏附素是一类存在于细菌表面的与黏附有关的分子。黏附素可分为**菌毛黏附素**和**非菌毛黏附素**两大类。菌毛黏附素是存在于细菌菌毛顶端并与黏附有关的分子，如大肠埃希菌的菌毛黏附素（又称为**定植因子**，colonization factor）和淋病奈瑟菌的菌毛黏附素。非菌毛黏附素是指存在于菌毛之外且与黏附有关的分子，如某些革兰阴性菌的**外膜蛋白**（outer membrane protein，OMP）和革兰阳性菌表面的某些分子。鼠疫耶尔森菌的外膜蛋白、A 群链球菌细胞壁的 LTA-M 蛋白复合物及其 F 蛋白、肺炎支原体的 P1 蛋白等均为非菌毛黏附素。

黏附素能与宿主细胞表面的黏附素受体发生特异性的结合，介导细菌进入宿主组织细胞间生长繁殖，形成细菌群体，这就称为**定植**（colonization）。黏附素的受体多为靶细胞表面的糖类或糖蛋白。例如大肠埃希菌 I 型菌毛黏附素的受体是肠黏膜上皮细胞表面的一种 D- 甘露糖；衣

笔记

原体的表面凝集素的受体是靶细胞的一种 N- 乙酰葡糖胺。表 6-2 列举了部分细菌的黏附素及其靶细胞受体。

表 6-2　部分细菌的黏附素及其受体

细菌名称	黏附素类型		靶细胞受体
	菌毛黏附素	非菌毛黏附素	
大肠埃希菌	Ⅰ型菌毛 定居因子抗原Ⅰ P 菌毛		D- 甘露糖 GM- 神经节苷脂 P 血型糖脂
其他肠道细菌	Ⅰ型菌毛		D- 甘露糖
淋病奈瑟菌	菌毛		GD1- 神经节苷脂
金黄色葡萄球菌		脂磷壁酸	纤维连接蛋白
A 群链球菌		LTA-M 蛋白复合体	纤维连接蛋白
肺炎链球菌		表面蛋白	N- 乙酰氨基己糖半乳糖
梅毒螺旋体		P1, P2, P3	纤维粘连蛋白
衣原体		表面凝集素	N- 乙酰葡糖胺
肺炎支原体		P1 蛋白	唾液酸
霍乱弧菌		Ⅳ型菌毛	岩藻糖和甘露糖

细菌的黏附作用与其致病性密切相关。例如从临床标本分离出的肠产毒素性大肠埃希菌大多数具有菌毛，通过菌毛黏附到肠黏膜细胞或泌尿道上皮细胞定植后，可分别引起腹泻或肾盂肾炎。如果志愿者口服肠产毒素性大肠埃希菌的无菌毛菌株，则不会引起腹泻。

（二）荚膜

荚膜具有抗宿主吞噬细胞和抵抗体液中杀菌物质的作用，使致病菌能在宿主体内存在、繁殖和扩散。荚膜在细菌的免疫逃逸现象中起着重要的作用，避免了被宿主的免疫防御机制杀灭。有研究表明，将无荚膜的肺炎链球菌注射至小鼠腹腔，细菌易被小鼠吞噬细胞吞噬、杀灭；但若接种有荚膜的菌株，则细菌会大量繁殖，小鼠常于注射后 24 小时内死亡。此外，A 群链球菌的 M 蛋白、伤寒沙门菌的 Vi 抗原，以及大肠埃希菌的 K 抗原等位于细胞壁外层的结构，通称为**微荚膜**，在致病中的作用类似荚膜。

（三）侵袭性酶类

许多在组织中繁殖起来的细菌可释放**侵袭性胞外酶**，有利于病原菌的抗吞噬作用并向周围组织扩散。例如，致病性**葡萄球菌凝固酶**，能使血浆中的可溶性纤维蛋白原转变为固态的纤维蛋白包绕在菌体表面，有利于抵抗宿主吞噬细胞的吞噬。A 群链球菌产生的**透明质酸酶**可分解细胞间质**透明质酸**、利于细菌及其毒素的扩散。淋病奈瑟菌、脑膜炎奈瑟菌、血链球菌、口腔链球菌、流感嗜血杆菌等可产生 sIgA 的蛋白酶，分解免疫球蛋白 IgA，破坏黏膜的特异性防御功能。某些致病菌被吞噬细胞摄入后，可产生一些酶类物质抵抗杀灭作用，如葡萄球菌能产生过氧化氢酶，抵抗中性粒细胞的髓过氧化物酶的杀菌作用，有利于细菌随吞噬细胞在组织中播散。

（四）侵袭素

细菌的黏附只是感染过程的第一步，有些细菌只需定植在组织细胞表面即可引起局部感染，而有些细菌还会侵入细胞内繁殖并扩散到其他的细胞组织甚至全身而引起侵袭性感染。细菌的这一侵袭能力受**侵袭基因**（invasive gene，*inv* 基因）所控制。*inv* 基因编码产生**侵袭素**（invasin），它能介导细菌侵入邻近的上皮细胞尤其是黏膜上皮细胞内。常见的具有侵袭能力的病原菌有鼠伤寒沙门菌、福氏志贺菌、肠侵袭性大肠埃希菌、空肠弯曲菌、假结核耶尔森菌、淋病奈瑟菌等。

笔记

(五) 细菌生物被膜

细菌生物被膜(bacterial biofilm, BF)是由细菌及其所分泌的胞外多聚物(胞外多糖或蛋白质)附着在有生命或无生命材料表面后形成的膜状结构,是细菌的群体结构(图 6-1)。细菌生物被膜是细菌在生长过程中为了适应周围环境而形成的一种保护性生存状态。与**游离细胞**(planktonic cell)相比,生物被膜的形成不仅有利于细菌附着在某些支持物表面,而且可阻挡抗生素的渗入和机体免疫物质的杀伤作用。此外,生物被膜内的细菌彼此之间还容易发生信号传递、耐药基因和毒力基因捕获及转移。

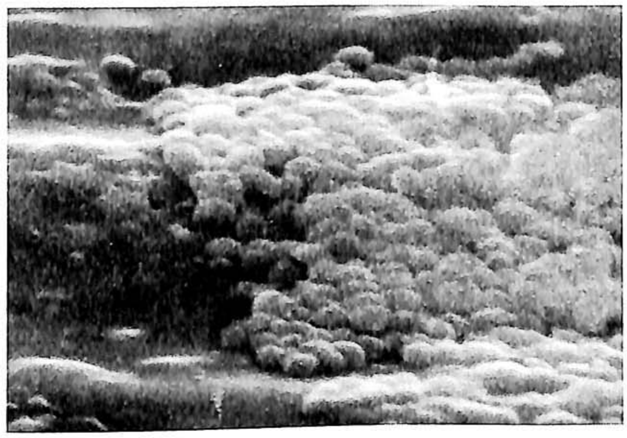


图 6-1 细菌生物被膜
(×6000)
(Coming from Lansing M. Prescott et al. Microbiology. 5th ed.McGraw-Hill Companies, 2002)

当细菌黏附在黏膜上皮细胞以及人体内植入的各种人工医疗材料,如人工心脏瓣膜、气管插管、人工关节等表面,都易形成生物被膜。自生物被膜菌脱落的细菌还可扩散到其他的部位引起感染。铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌等极易形成生物被膜,是引起感染的常见致病菌。在 80%~90% 的肺囊性纤维化患者的肺组织中可以检测到铜绿假单胞菌的生物被膜,这些患者最终因呼吸衰竭而死亡。生物被膜中的细菌容易对多种不同的抗生素产生耐药,造成多重耐药性。因此,细菌生物被膜具有极强的耐药性和抵抗机体免疫系统的作用,感染了细菌生物被膜的组织和污染了细菌生物被膜的生物材料,即使应用成百倍高浓度的抗菌药物也难奏效。

二、细菌的毒素

细菌毒素(bacterial toxin)按其来源、性质和作用特点的不同,可分为**外毒素**(exotoxin)和**内毒素**(endotoxin)两种。

(一) 外毒素

外毒素是细菌合成并分泌(或释放)的毒性蛋白质。革兰阳性菌中的破伤风梭菌、肉毒梭菌、白喉棒状杆菌、产气荚膜梭菌、A 群链球菌、金黄色葡萄球菌等以及革兰阴性菌中的痢疾志贺菌、霍乱弧菌、肠产毒素性大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、鼠疫耶尔森菌等均能产生外毒素。大多数外毒素是在细菌细胞内合成后分泌至细胞外的;但也有的外毒素存在于菌体内,待菌细胞破坏后才释放出来,如痢疾志贺菌和肠产毒素性大肠埃希菌。

1. 外毒素的主要特性

(1) 大多数外毒素的化学本质都是蛋白质:多数外毒素为 A-B 型分子结构,即毒素分子由 A 和 B 两种亚单位构成。A 和 B 两个亚单位可在一个毒素分子上,如铜绿假单胞菌的外毒素 A。也可由 A 和 B 两种不同的分子通过二硫键连接聚合成具有毒性的多聚体,如霍乱肠毒素。A 亚单位是外毒素**活性单位**(active subunit)部分,决定其毒性效应。B 亚单位是非毒性单位,但能与宿主靶细胞表面的特异受体结合,称为**结合亚单位**(binding subunit),它的作用是介导 A 亚单位进入靶细胞内。A 或 B 亚单位独立存在时对宿主细胞无致病作用,因此外毒素分子结构的完整性是致病的必要条件。

A-B 毒素编码基因的位置随病原菌的种类不同而异。鲍特菌腺苷酸环化酶毒素、霍乱肠毒素、百日咳毒素、铜绿假单胞菌外毒素 A、志贺毒素等的基因位于染色体上;破伤风痉挛毒素、炭疽毒素、大肠埃希菌 LT 等的基因位于质粒上;肉毒毒素、大肠埃希菌志贺毒素、白喉毒素、链球

菌致热外毒素的基因位于前噬菌体。

(2) 毒性作用强且对组织器官有高度选择性：如肉毒梭菌外毒素毒性比氰化钾强 1 万倍，是目前已知的最剧毒物，1mg 毒素纯品能杀死 2 亿只小鼠。许多外毒素对组织器官有选择性，通过与特定靶细胞的受体结合后引起特殊的病变。例如肉毒毒素能阻断胆碱能神经末梢释放乙酰胆碱，引起骨骼肌麻痹而致病。而白喉毒素对外周神经末梢、心肌细胞等有亲和性，通过抑制靶细胞蛋白质的合成而引起疾病。

(3) 绝大多数外毒素不耐热：例如白喉外毒素在 58~60℃经 1~2 小时处理、破伤风外毒素在 60℃经 20 分钟处理即可被破坏。但葡萄球菌肠毒素则例外，能耐受 100℃ 30 分钟处理。

(4) 抗原性强：外毒素是蛋白质，故有很强的抗原性。A–B 结构分子中的 B 亚单位是保护性抗原而无毒性，适合于研制疫苗。用人工化学方法可去除 A 亚单位的毒性，但保留其抗原性。采用 0.4% 甲醛液处理，去除外毒素毒性而保留其免疫原性的生物制品称为**类毒素**（toxoid）。类毒素注入机体后，可刺激机体产生具有中和外毒素作用的**抗毒素抗体**，故可用类毒素进行**人工主动免疫**预防相应疾病。

2. 外毒素的分类及作用 根据外毒素对宿主细胞的亲和性及作用靶点等，可将外毒素分为**神经毒素**（neurotoxin）、**细胞毒素**（cytotoxin）和**肠毒素**（enterotoxin）三大类（表 6–3）。

表 6–3 外毒素的种类和作用机制

类型	产生细菌	外毒素	所致疾病	作用机制	症状和体征
神经毒素	破伤风梭菌	痉挛毒素	破伤风	阻断抑制性神经递质甘氨酸的释放	骨骼肌强直性痉挛
	肉毒梭菌	肉毒毒素	肉毒中毒	抑制胆碱能运动神经释放乙酰胆碱	肌肉松弛性麻痹
细胞毒素	白喉棒状杆菌	白喉毒素	白喉	灭活 EF–2，抑制细胞蛋白质合成	肾上腺出血，心肌损伤，外周神经麻痹
	金黄色葡萄球菌	毒性休克综合征毒素 1	毒性休克综合征	增强对内毒素作用的敏感性	发热、皮疹、休克
		表皮剥脱毒素	烫伤样皮肤综合征	表皮与真皮脱离	表皮剥脱性病变
	A 群链球菌	致热外毒素	猩红热	破坏毛细血管内皮细胞	发热、猩红热皮疹
肠毒素	霍乱弧菌	肠毒素	霍乱	激活肠黏膜腺苷环化酶，增高细胞内 cAMP 水平	水电解质平衡失调、腹泻、呕吐
	肠产毒素性大肠埃希菌	肠毒素	腹泻	不耐热肠毒素，耐热肠毒素，使细胞内 cGMP 增高	同霍乱肠毒素
	产气荚膜梭菌	肠毒素	食物中毒	同霍乱肠毒素	呕吐为主、腹泻
	金黄色葡萄球菌	肠毒素	食物中毒	作用于呕吐中枢	呕吐、腹泻

(1) 神经毒素：主要作用于神经组织，引起神经传导功能紊乱。包括破伤风痉挛毒素、肉毒梭菌产生的肉毒毒素等。神经毒素种类不多，但毒性作用强烈，致死率高。

(2) 细胞毒素：能直接损伤宿主细胞，包括抑制蛋白质合成，破坏细胞膜等。例如白喉毒素催化 ADP– 核糖基团到 eEF–2 上，从而抑制蛋白质合成；破坏细胞膜的毒素较多，例如 A 群链球菌溶血素 O、肺炎链球菌溶血素、大肠埃希菌溶血素、金黄色葡萄球菌 α 溶血素等能引起红细胞的溶解。产气荚膜梭菌 α 毒素溶解组织细胞，因此这些毒素亦称**膜损伤毒素**（membrane–disrupting toxin）。

细胞毒素破坏细胞膜的作用机制有两种类型：①**成孔毒素**（pore–forming toxin），以多个毒素

笔记

分子单体形式插入细胞膜，形成孔道，使膜电位和细胞内外渗透压改变，小分子物质漏出，水分子进入，细胞破解；②**磷脂酶类**，这类毒素分解宿主细胞膜的卵磷脂，破坏细胞膜的完整性，使细胞坏死。卵磷脂在宿主细胞膜普遍存在，因此这类毒素的作用无选择性。产气荚膜梭菌 α 毒素、金黄色葡萄球菌 β 溶血素、铜绿假单胞菌毒素等都属此类毒素。

(3) 肠毒素：是一类作用于肠上皮细胞、引起肠道功能紊乱的毒素。霍乱毒素、艰难梭菌毒素、产毒性大肠埃希菌 LT、ST 毒素等属此类毒素。

(二) 内毒素

内毒素是革兰阴性菌细胞壁中的**脂多糖**(lipopolysaccharide，LPS)组分，只有在细菌死亡裂解后才被释放出来。其分子结构由 O **特异性多糖**、**非特异核心多糖**和**脂质** A 三部分组成(图 6-2)。螺旋体、衣原体、支原体、立克次体亦有类似的 LPS，具有内毒素活性。

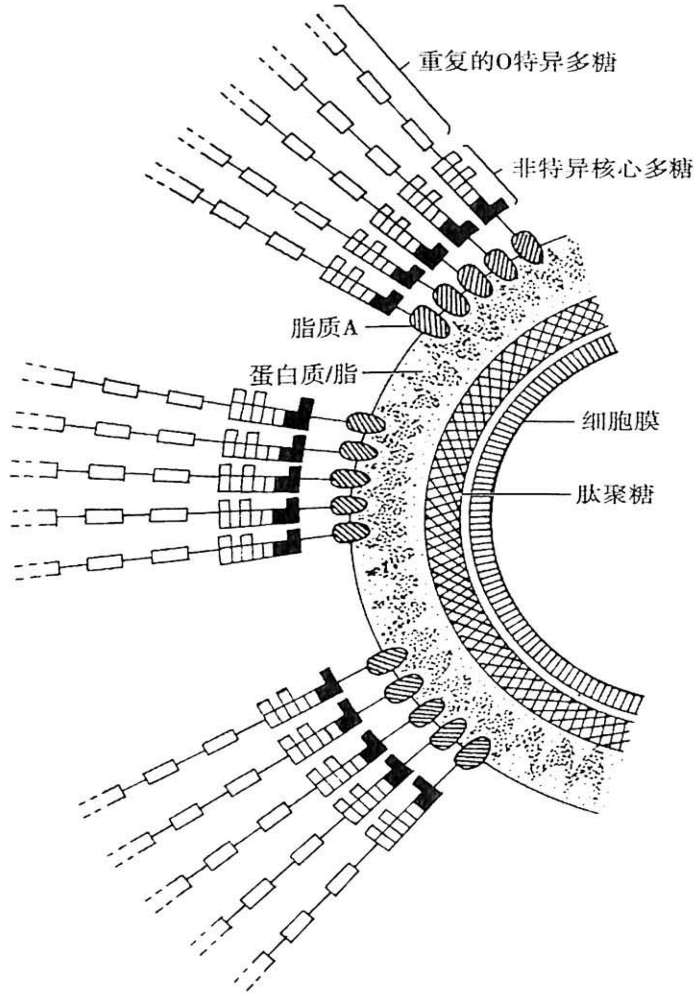


图 6-2 革兰阴性菌细胞壁内毒素

1. 内毒素的主要特点

(1) 产生于革兰阴性菌细胞壁。

(2) 化学性质是 LPS。

(3) 对理化因素稳定：加热 160℃ 2~4 小时或用强酸、强碱、强氧化剂煮沸 30 分钟才被灭活。这一性质具有重要的临床实践意义，如内毒素污染了注射液和药品，难以用加热方法使其灭活，进入人体会引起临床不良后果。

(4) 毒性作用相对较弱且对组织无选择性。各种革兰阴性菌产生的内毒素的致病作用基本相似，其原因可能是各种不同革兰阴性菌主要毒性组分脂质 A 高度保守，结构基本相似。因此，不同革兰阴性菌感染时，由内毒素引起的毒性作用大致类同。

(5) 不能用甲醛液脱毒而成为类毒素。

2. 内毒素引起的主要病理生理反应

(1) 致发热反应：极微量(1~5ng/kg)内毒素就能引起人体体温上升。内毒素作用于巨噬细胞、血管内皮细胞等，使之产生 IL-1、IL-6 和 TNF-α 等细胞因子。这些细胞因子是**内源性致热原**(endogenous pyrogen)，它们可作用于宿主下丘脑体温调节中枢，导致产热增加、微血管扩张、炎症反应等。这些反应本身也是机体的保护性免疫应答。

(2) 引起白细胞数量变化：内毒素进入人体初期，可使中性粒细胞黏附到组织毛细血管壁，导致血液循环中的中性粒细胞数减少。数小时后，由 LPS 诱生的**中性粒细胞释放因子**(neutrophil releasing factor)刺激骨髓释放中性粒细胞进入血流，使数量显著增加。但伤寒沙门菌内毒素是例外，始终使血液循环中的白细胞总数减少，机制尚不清楚。

(3) 内毒素血症与内毒素休克：当血液有革兰阴性细菌大量繁殖或感染灶释放内毒素入血或输液中含有内毒素时，都会导致**内毒素血症**(endotoxemia)。内毒素作用于巨噬细胞、中性粒细胞、内皮细胞、血小板、补体系统、凝血系统等并诱生 TNF-α、IL-1、IL-6、IL-8、组胺、5-羟色胺、

前列腺素、激肽等生物活性物质，使小血管功能紊乱而造成微循环障碍，组织器官毛细血管灌注不足、缺氧、酸中毒等。高浓度的内毒素也可激活补体替代途径，引发高热、低血压，以及活化凝血系统，最后导致**弥散性血管内凝血**（disseminated intravascular coagulation，DIC）。严重时可导致以**微循环衰竭**和低血压为特征的**内毒素休克**甚至死亡。

3. 内毒素的致病机制　LPS 可与宿主体内的靶细胞结合，结合方式有两种：①非特异性结合：LPS 的脂质 A 通过亲脂性疏水作用与细胞膜磷脂结合，改变磷脂膜的理化性质（如膜完整性、流动性、膜电势等），影响细胞的状态和功能；②特异性结合：通过脂质 A 与相应受体结合。LPS 的膜受体有多种，其中一种是 CD14 分子。LPS 与 CD14 结合，进而激活 Toll 样受体（Toll-like receptors，TLRs），启动跨膜信号传导，引起一系列病理生理反应。TLRs 主要表达在单核 - 巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞、血管内皮细胞及肠上皮细胞等细胞膜上。LPS 与 TLRs 结合后可以启动多条胞内信号传导途径，但其中最重要的是"核转录因子 - κB 途径"（NF-κB）。在静息细胞内，NF-κB 与 IκB 结合，以非活性形式存在于细胞浆内。当感染发生时，LPS 通过 TLRs 信号传导途径激活 NF-κB，进而启动下游基因转录，引起一系列细胞生物学效应。NF-κB 调控的下游基因主要有以下几种：

（1）参与炎症和早期防御反应的基因：这些基因编码的产物分别有：①前炎症细胞因子，如 TNF-α、GM-CSF、IL-1/2/6/12 等；②细胞粘附分子（ICAM）、血管细胞黏附因子（VCAM）、E 选择素（ELAM）等；③急性期蛋白；④诱导酶，如诱导型一氧化氮合成酶（iNOS）；⑤抗菌多肽，如 β-防御素（β-defensins）等。

（2）参与特异性免疫的基因：如编码 IL-2/12、IFN-γ、协同刺激因子 CD80 和 CD86 的基因。

（3）参与细胞凋亡的基因：包括编码"凋亡抑制蛋白"（IAP-1/2）、Fas 配体、c-myc、p53 的基因。

由上述可见，LPS 一般不直接损伤各种组织细胞，而是通过各种参与天然免疫的各种细胞、内皮细胞和黏膜细胞，诱导产生各种细胞因子、炎症因子、急性期蛋白、活性氧 / 氮分子，以及激活特异性免疫细胞，引起组织细胞以及全身性多种病理生理反应（图 6-3）。

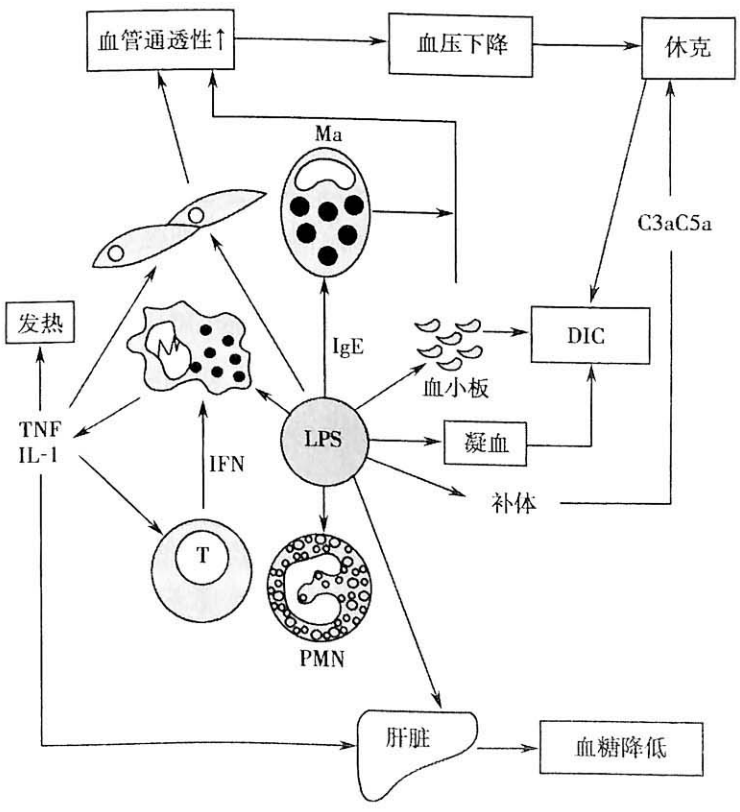


图 6-3　LPS 的生物学作用

笔记

细菌外毒素与内毒素的主要特性比较详见表 6-4。

表 6-4 外毒素与内毒素的主要特性区别

区别要点	外毒素	内毒素
来源	革兰阳性菌与部分革兰阴性菌	革兰阴性菌
编码基因	质粒或前噬菌体或染色体基因	染色体基因
存在部位	从活菌分泌出,少数菌崩解后释出	细胞壁组分,菌裂解后释出
化学成分	蛋白质	脂多糖
稳定性	60~80℃,30 分钟被破坏	160℃,2~4 小时才被破坏
毒性作用	强,对组织器官有选择性毒害效应,引起特殊临床表现	较弱,各菌的毒性效应大致相同,引起发热、白细胞增多、微循环障碍、休克、DIC 等全身反应
抗原性	强,刺激机体产生抗毒素;甲醛液处理脱毒形成类毒素	弱,刺激机体产生的中和抗体作用弱;甲醛液处理不形成类毒素

三、体内诱生抗原

近年来的研究表明,有些细菌的基因在人工培养条件下并不表达,而只有在进入宿主体内后才被诱导表达。这类只有在细菌侵入宿主体内才诱导表达的基因,称为**体内诱导基因**(*in vivo* induced gene,IVIG)。其中有些体内诱导基因与致病性密切相关。研究表明绝大多数病原菌都有体内诱导表达基因存在。目前,已建立了多种筛选体内诱导基因的技术方法,包括标记突变技术(signature tagged mutagenesis,STM)、体内表达技术(*in vivo* expression technology,IVET)、差异荧光诱导技术(differential fluorescence induction,DFI)和体内诱生抗原鉴定技术(*in vivo* induced antigen technology,IVIAT)等。应用这些技术已从鼠伤寒沙门菌、布鲁司杆菌、霍乱弧菌、鼠疫耶尔森菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、变形杆菌等病原体内鉴定出体内诱导基因。

四、超 抗 原

超抗原(superantigen)是一类具有超强能力刺激淋巴细胞增殖和刺激产生过量 T 细胞及细胞因子的特殊抗原,其刺激淋巴细胞增殖的能力是植物凝集素的数千倍。某些细菌、病毒以及支原体等微生物等都能产生超抗原类活性物质。它们的特点为:①不经过抗原递呈细胞的处理,便能与 MHC- Ⅱ类分子结合,激活 T 细胞增殖并释放大量细胞因子,如 IL-1,IL-2,TNF-α 和 INF-γ 等;②一个超抗原分子能以不同的部位同时与 T 细胞 TCR 和 APC 的 MHC - Ⅱ分子结合,刺激产生大量 T 细胞克隆,引起类似内毒素的作用后果。例如葡萄球菌肠毒素和毒性休克综合征毒素 -1(TSST-1)、链球菌致热外毒素等,它们能引起毒素性休克综合征、猩红热等疾病。

五、免疫病理损伤

在微生物感染情况下,有些原本没有直接毒性的抗原物质,有可能通过激活机体的免疫应答,基于超敏反应的机制引起组织细胞的免疫病理性损伤,最终导致疾病。例如长期或反复链球菌感染,可通过Ⅲ型超敏反应,由免疫复合物沉积于血管基底膜导致的肾小球肾炎、风湿性关节炎、风湿性心脏病等;由结核分枝杆菌引起的结核病变,通常认为与Ⅳ型超敏反应密切相关。

值得注意的是,通过免疫病理引起损伤的病例中,宿主的免疫状态是重要的因素。如同样的链球菌感染,却只有极少数人发生免疫复合物性疾病。可见,机体的过敏反应状态在其中起着重要作用。

笔记

第三节　宿主的抗感染免疫

宿主的免疫系统具有能够识别和清除病原菌感染的免疫防御功能。病原微生物或其产物进入机体时，机体首先对病原微生物及其产物进行识别。识别这些外来异物后，通过**天然免疫**(innate immunity)机制和**获得性免疫**(acquired immunity)机制清除进入外来异物。这个过程称为机体的**抗感染免疫**。天然免疫也称**固有免疫**(intrinsic immunity)，**获得性免疫**也称**适应性免疫**(adaptive immunity)。

一、固有免疫

机体固有免疫是在长期种系发育和进化过程中，逐渐建立起来的一系列防御病原微生物等的免疫功能。参与固有免疫的主要有屏障结构、吞噬细胞以及正常体液和组织的免疫成分等。

(一) 屏障结构

1. 皮肤与黏膜　皮肤黏膜可发挥如下免疫功能：

(1) 阻挡和排除作用：健康完整的皮肤和黏膜有阻挡和排除病原微生物的作用。体表上皮细胞的脱落与更新，可清除黏膜上的微生物。呼吸道黏膜上皮的纤毛运动，口腔吞咽和肠蠕动等，使病原体难以定植而被排除。当皮肤受损，或黏膜屏障削弱时，就易受病原体的感染。

(2) 分泌多种杀菌物质：皮肤和黏膜可分泌多种杀菌物质。例如皮肤汗腺分泌的**乳酸**使汗液呈酸性(pH 5.2~5.8)，不利于细菌生长。皮脂腺分泌的**脂肪酸**有杀细菌和真菌的作用。不同部位的黏膜能分泌不同的抗菌物质，如溶菌酶、抗菌肽、胃酸、蛋白酶等多种杀菌物质。

(3) 正常菌群的拮抗作用：寄居在皮肤和黏膜表面的正常菌群构成了微生物屏障。它们可通过与病原体竞争受体和营养物质以及产生抗菌物质等方式，阻止病原体在上皮细胞表面的黏附和生长。

2. 血脑屏障　血脑屏障由软脑膜、脉络膜、脑毛细血管和星状胶质细胞等组成。通过脑毛细血管内皮细胞层的紧密连接和吞饮作用，阻挡病原体及其毒性产物从血流进入脑组织或脑脊液，从而保护中枢神经系统。婴幼儿因血脑屏障发育不完善，故易发生中枢神经系统感染。

3. 胎盘屏障　由母体子宫内膜的基蜕膜和胎儿绒毛膜共同组成。此屏障可防止母体内的病原微生物进入胎儿体内，保护胎儿免受感染。在妊娠3个月内，胎盘屏障尚未发育完善，此时若母体发生感染，病原体则有可能通过胎盘侵犯胎儿，干扰其正常发育，造成畸形甚至死亡。药物也可通过不完善的胎盘影响胎儿。因此，在妊娠期间尤其是早期，应尽量防止感染并尽可能不用或少用副作用大的药物。

(二) 吞噬细胞

病原体突破皮肤或黏膜屏障侵入体内后，首先遭遇吞噬细胞的吞噬作用。吞噬细胞分为两大类，一类是小吞噬细胞，主要指血液中的中性粒细胞。另一类是大吞噬细胞，即**单核吞噬细胞系统**(mononuclear phagocyte system，MPS)，包括血液中的单核细胞和各种组织器官中的巨噬细胞，进而杀伤和消化侵入病原体。

1. 吞噬细胞对病原菌的识别　吞噬细胞是通过**模式识别**(pattern recognition)来实现对病原菌的识别的。模式识别理论认为，病原体内存在一些进化上非常保守的与致病性相关的组分称为**病原体相关分子模式**(pathogen-associated molecular pattern，PAMP)。而在宿主的免疫活性细胞上存在一类识别PAMP并介导天然免疫启动的受体。Janeway将其命名为**模式识别受体**(pattern recognition receptor，PRR)，并指出这类受体从无脊椎动物到脊椎动物都是非常保守的。机体先天免疫系统对微生物及其产物的识别是通过模式识别受体(PRR)来感知病原体相关分子模式(PAMP)从而识别入侵的病原体及其产物的。

笔记

PAMP存在于细菌的细胞壁的成分如**肽聚糖**(peptidoglycan,PGN)和**脂多糖**(lipopolysaccharide,LPS)、细菌蛋白、细菌脂类以及细菌和病毒的核酸残基等。尽管微生物的种类繁多,它们的抗原分子更是千变万化、数不胜数的。但若把微生物的抗原分子归纳为"**分子模式**",就可以把无限的抗原特异性种类归纳为有限的"分子模式",这就为机体通过模式识别受体来识别外来抗原提供了可行性基础。

机体的PRR存在于机体血清中、免疫细胞膜表面甚至细胞浆内。PRR在机体内的特异性种类是有限的,但PRR对抗原的识别不是严格一对一的"锁-钥"关系。只要两者在结合部位是基本适合,就可以结合且可通过分子振动提高结合的适合度,实现柔性结合。这种"模式识别"大大提高了机体识别外来异物的经济性。

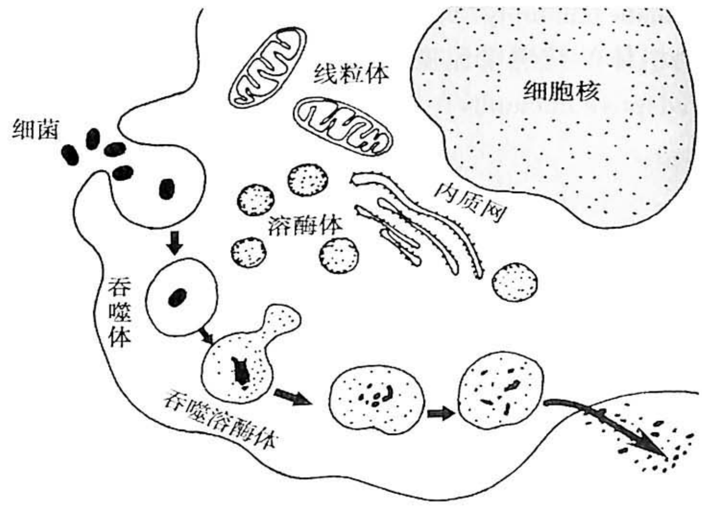


图6-4 吞噬细胞对细菌的吞噬和消化过程示意图

2. 吞噬和杀菌过程(图6-4)

(1)趋化:趋化因子的作用是吸引吞噬细胞穿过毛细血管壁,定向聚集到局部炎症部位。趋化因子的种类很多,主要包括补体活化产物C5a、C3a、C567;细菌成分或代谢产物;炎症组织分解产物;以及某些细胞因子等。

(2)识别与黏附:研究发现吞噬细胞表面存在多种模式识别分子,如CD14、TLRs、β_2-整合素、选择素、清道夫受体、**膜延展刺突蛋白**(Moesin)和甘露糖受体等。这些模式识别受体与病原体的PAMP结合,使得病原体附着到吞噬细胞表面,从而捕获细菌。血清中**脂多糖结合蛋白**(lipopolysaccharide binding protein,LBP)能与LPS结合,这种LPS-LBP复合体通过CD14与吞噬细胞相结合可增强吞噬细胞的吞噬作用。另外,中性粒细胞和单核巨噬细胞表面均具有抗体IgG Fc受体和补体C3b受体,借助于抗体和补体的调理作用,吞噬细胞的吞噬和杀伤效力明显增强。

(3)吞入:吞噬细胞与病原体结合后,接触部位的细胞膜内陷,同时伸出伪足将病原体包围并摄入细胞质内,形成由部分胞膜包绕的**吞噬体**(phagosome),此过程称为**吞噬**(phagocytosis)。而对病毒等较小病原微生物,其附着处的细胞膜向细胞质内陷形成**吞饮体**(pinosome),将病毒等包裹在内,称为**吞饮**(pinocytosis)。

(4)杀灭与消化:当吞噬体形成后,与吞噬细胞胞质中的**溶酶体**(lysosome)靠近并融合,形成**吞噬溶酶体**(phagolysosome)。其杀菌作用主要借助于吞噬溶酶体内的依氧和非依氧两大杀菌系统。**依氧杀菌系统**通过氧化酶的作用,使分子氧活化成为多种**活性氧中介物**(reactive oxygen intermediate,ROI)和**活性氮中介物**(reactive nitrogen intermediate,RNI),直接作用于微生物;或通过**髓过氧化物酶**(myeloperoxidase,MPO)和卤化物的协同而杀灭微生物。**非依氧杀菌系统**不需要分子氧的参与,而是通过**溶菌酶、酸性环境和杀菌性蛋白**发挥作用。杀死的病原体进一步由蛋白酶、核酸酶、酯酶等降解、消化,最后将残渣排至吞噬细胞外。

吞噬细胞的依氧杀菌机制基于吞噬引起**呼吸爆发**(respiratory burst)。呼吸爆发过程中细胞内氧化酶和其他酶类活化,产生多种活性氧中介物(ROI)和活性氮中介物(RNI)。ROI包括过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子(O^-_2)、游离羟基(OH^-)和单态氧($^1O_2$)等。RNI包括一氧化氮(NO)、亚硝酸盐(NO^-_2)以及硝酸盐(NO^-_3)等。这两类物质具有高效的杀伤活性,对细菌等病原体有直接杀伤作用。同时,由髓过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)介导的杀伤机制也发挥作用,H_2O_2可与

笔记

MPO、氯化物等卤族元素共同组成 MPO 杀菌系统。H_2O_2 本身的杀菌能力可因有氯化物存在，经 MPO 的作用而大大增强。在吞噬溶酶体中，该系统对细菌、真菌等病原体具有强大杀伤作用。

非依氧杀菌机制不需要分子氧的参加。主要包括：①溶菌酶和杀菌性蛋白的作用。溶酶体中含有的溶菌酶，以及防御素、乳铁蛋白、蛋白水解酶、核酸酶、酯酶等，它们均可直接对细菌发挥杀伤、消化或分解作用。②酸性的作用。因糖酵解，乳酸积累而导致 pH 下降。酸性本身不仅具有杀菌、抑菌作用，同时也为各种水解酶提供了最适的作用条件。

3. 吞噬作用的后果　吞噬作用的后果包括**完全吞噬**和**不完全吞噬**，同时还会造成组织损伤。

(1) 完全吞噬：病原体在吞噬溶酶体中被杀灭和消化，未消化的残渣被排出胞外，此即完全吞噬。如大多数化脓性球菌被中性粒细胞吞噬后，一般在 5~10 分钟死亡，30~60 分钟被破坏。

(2) 不完全吞噬：某些**胞内寄生菌**（如结核分枝杆菌、嗜肺军团菌）或病毒等病原体在免疫力低下的机体中，虽被吞噬却不被杀死，称为不完全吞噬。此种吞噬对机体不利，因病原体在吞噬细胞内得到保护，可以免受体液中的抗菌物质和抗菌药物等的作用。有的病原体甚至能在吞噬细胞内生长繁殖，导致吞噬细胞死亡，或随吞噬细胞游走，并经淋巴液或血液扩散到人体其他部位，引起感染扩散。

(3) 组织损伤：吞噬细胞在吞噬过程中，由溶酶体释放的多种蛋白水解酶以及杀菌因素，也能破坏邻近的正常组织细胞，造成组织损伤和炎症反应。

(4) 抗原提呈：巨噬细胞吞噬、消化处理病原体后，可将一些有效的抗原决定簇经过加工、处理，提呈给 T 淋巴细胞，激活机体的特异性免疫机制。

(三) 体液因素

机体正常组织和体液中存在多种抗菌物质，常配合其他杀菌因素发挥作用。

1. 补体(complement)　补体是存在于正常体液中的一组球蛋白，由巨噬细胞、肠上皮细胞、肝和脾细胞等产生。补体系统经由经典途径和旁路途径被激活。补体系统活化后产生多种生物学活性分子，通过不同的机制发挥抗感染免疫作用。例如补体活化产物 C3a、C5a 具有趋化作用，可吸引吞噬细胞到达炎症部位；C3b、C4b 具有调理作用，促进吞噬细胞的吞噬活性；膜攻击复合物 C3b~9 则能溶解破坏某些细菌和包膜病毒。在感染早期抗体出现前，补体可以通过旁路途径激活而发挥趋化、调理、溶菌、溶细胞等防御作用，是一种重要的抗感染天然免疫机制。

2. 溶菌酶(lysozyme)　溶菌酶为一种碱性蛋白，主要来源于吞噬细胞，广泛分布于血清、唾液、泪液、乳汁和黏膜分泌液中。作用于革兰阳性菌的胞壁**肽聚糖**，使之裂解而溶菌。革兰阴性菌对溶菌酶不敏感，但在特异性抗体参与下，溶菌酶也可破坏革兰阴性菌。

3. 抗微生物肽(antimicrobial peptide)　抗微生物肽是一类富含碱性氨基酸的小分子多肽，一般只有十多个到四十多个氨基酸。种类有数百种，文献中有抗菌肽、抗微生物肽、肽抗生素等不同称呼。它们几乎在各种组织细胞中都有表达，其杀菌机制是破坏细菌细胞膜的完整性，使菌细胞溶解死亡，构成了天然免疫的主要方面。

正常体液中尚有乙型溶素、吞噬细胞杀菌素、组蛋白、乳素、正常调理素等杀菌或抑菌物质。

二、适应性免疫

适应性免疫包括**体液免疫**和**细胞免疫**两大类，分别由 **B 淋巴细胞**和 **T 淋巴细胞**所介导。

(一) 体液免疫

体液免疫在抗微生物感染中占有极为重要的地位。体液免疫的效应分子是**抗体**(antibody，Ab)。其效应作用主要表现在以下几方面：

1. 抑制病原体黏附　黏附于上皮细胞是许多病原体感染发生的第一步。血液中的抗黏附素或抗微生物表面 PAMP 的抗体、尤其是黏膜表面的分泌型 IgA 型抗体，可发挥阻断细菌黏附

笔记

以及阻断病毒吸附敏感细胞的作用。其作用机制是基于特异性抗体对病原体表面黏附相关分子的封闭作用。

2. 调理吞噬作用 抗体和补体增强吞噬细胞吞噬、杀灭病原体的作用称为**调理作用**(opsonization)。中性粒细胞和单核吞噬细胞上有抗体 IgG 的 Fc 受体和补体 C3b 受体。因而 IgG 抗体可通过其 Fab 段与病原体抗原结合,通过 Fc 段与吞噬细胞结合,这样抗体在病原体与吞噬细胞之间形成桥接,促使吞噬细胞对病原体的吞噬和杀灭。补体活化产物 C3b 等能非特异地覆盖于病原体表面,再通过 C3b 受体与吞噬细胞结合,从而起到调理作用。抗体与补体两者联合作用则效应更强。

3. 中和细菌毒素 机体产生的特异性针对毒素的抗体,称为抗毒素。抗毒素能阻断外毒素与靶细胞上特异性受体结合,或者是封闭了毒素的活性部位,因而使毒素失去毒性作用。特异性抗体对外毒素、内毒素以及其他类型的毒素都有效,但必须基于特异性结合基础之上。针对外毒素(如白喉毒素或破伤风毒素)的抗毒素已在临床被广泛应用。

4. 抗体和补体的联合溶菌作用 抗体(IgG、IgM)与相应病原体或受病原体感染的靶细胞结合后,通过经典途径激活补体,最终由补体的攻膜复合体将细菌或受感染的靶细胞溶解。

5. 抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(antibody dependent cell mediated cytotoxicity, ADCC) IgG 的 Fc 段与 NK 细胞上 Fc 受体结合,促进 NK 细胞的细胞毒作用,裂解微生物寄生的靶细胞。

(二) 细胞免疫

细胞免疫是 T 细胞介导的免疫应答。细胞免疫的效应细胞主要是**细胞毒性 T 细胞**(cytotoxic T lmphocyte, CTL)和 CD_4^+ **Th1 细胞**。

1. CTL 当病原体侵入机体后,经抗原提呈加工处理,形成抗原 -MHC 分子复合物,提呈给 T 淋巴细胞识别。T 细胞受抗原刺激后,活化、增殖、分化为 CTL。CD_8^+ CTL 是细胞免疫反应的重要效应细胞,可特异性直接杀伤靶细胞。杀伤机制主要有:①释放**穿孔素**(perforin)和**颗粒酶**(granzyme)等毒性分子导致靶细胞裂解;② CD_8^+ CTL 活化后膜表面表达 **FasL**,FasL 和靶细胞表面的 **Fas 分子**结合,导致靶细胞内在的自杀基因程序活化,引起靶细胞**凋亡**(apoptosis)。CTL 攻击靶细胞后,自身不受损伤,仍可与新的靶细胞结合发挥效应,也可通过非溶细胞机制,如分泌细胞因子 IFN-γ、TNF-α 等发挥抗感染作用。

2. Th1 细胞 效应 Th1 细胞能分泌 IL-2、IFN-γ、TNF-α 等多种细胞因子,招募吞噬和多种免疫活性细胞进入病原体侵入部位,围歼入侵病原体以及有微生物(细菌和病毒)寄生的感染细胞。IFN-γ 可活化巨噬细胞,增强对胞内微生物的杀灭作用。细胞因子还可增强 NK 细胞的杀伤作用、促进单核细胞向炎症局部浸润及促进 CTL 的分化成熟等,加强固有免疫和特异性免疫效应。

(三) 黏膜免疫

人体与外界接触的黏膜表面,是病原微生物侵入的主要门户。分布在消化道、呼吸道及其他部位黏膜下的淋巴样组织,构成了机体局部黏膜防御系统,称为**黏膜免疫系统**(mucosal immune system, MIS)。

肠道中的**肠壁集合淋巴结**或称**派伊尔结**(Payer's patch)在诱导黏膜免疫应答中起重要作用。位于黏膜上皮中的 **M 细胞**(microfold cell)是启动黏膜免疫反应的关键细胞。当病原体侵入时,M 细胞可将抗原内吞,再将其转运到黏膜上皮下方的派伊尔淋巴结中。抗原很快被抗原提呈细胞(APC)摄取,并提呈给 T、B 淋巴细胞,诱导产生特异性免疫应答。

MIS 的主要功能是产生具有**局部免疫**作用的保护性免疫分子,即分泌型 sIgA。sIgA 能阻止病原体自黏膜侵入。黏膜免疫系统不仅可刺激产生局部黏膜免疫应答,而且也可诱导全身系统免疫应答。如在口服灭活或减毒微生物疫苗时,除在肠道可检出特异性 sIgA 外,在呼吸道、泌尿生殖道以及泪液、乳汁中也有特异性 sIgA 的存在。黏膜免疫系统还可通过吞噬细胞、T 细胞发

笔记

挥细胞免疫功能。

三、抗胞内菌免疫

细菌在人体内的寄居环境可分为细胞外与细胞内两大不同的环境。绝大部分是寄居在细胞外，属于**胞外菌**（extracellular bacteria）感染，寄居在宿主细胞表面、组织间隙和血液、淋巴液、组织液等体液中。另有部分属于**胞内菌**（intracellular bacteria）感染。**兼性胞内菌**即可在宿主细胞内寄居，也可在体外环境中生长繁殖，如结核分枝杆菌、伤寒沙门菌即属此类。**专性胞内菌**则必须在活细胞内生长繁殖，如立克次体、衣原体属于此类。由于胞内菌感染，有宿主细胞的屏障作用，机体对胞内菌感染的免疫有着不同的特点。主要表现为特异性抗体不能进入细胞内发挥作用，抗胞内菌感染主要依靠细胞免疫。

（一）吞噬细胞对胞内菌的作用

胞内菌主要被单核巨噬细胞吞噬。但在特异性细胞免疫产生之前，未活化的单核巨噬细胞往往难以杀死吞入的细菌。被特异激活的单核巨噬细胞产生活性氧中介物（ROI）、活性氮中介物（RNI）的能力增强，尤其是大量一氧化氮（NO）的产生，能更有效地杀伤多种胞内菌。此外，中性粒细胞在感染早期有一定作用，NK 细胞可直接杀伤感染的靶细胞。

（二）细胞免疫对胞内菌的作用

抗胞内菌感染的细胞免疫主要是通过 Th1 细胞和 CTL 细胞来完成的。CD_4^+ Th1 可分泌多种细胞因子（IL-2、IFN-γ、TNF-α 等），激活并增强巨噬细胞对靶细胞的杀伤能力，引起迟发型超敏反应，有利于对胞内菌的清除。CTL 在抗某些胞内菌（如结核分枝杆菌）感染中可直接杀伤靶细胞。CTL 抗胞内菌感染的作用机制主要有：①通过毒性分子包括穿孔素、颗粒酶的介导发挥细胞毒性作用，破坏靶细胞，使病菌释放出，再由抗体等调理后被巨噬细胞吞噬消灭；②颗粒酶对胞内寄生菌的直接杀灭作用；③通过分泌 Th1 型细胞因子，如 IFN-γ 等，活化巨噬细胞，增强其杀伤能力。

（三）特异性抗体对胞内菌的作用

如前所述，抗体无法进入细胞内发挥作用。但是抗体在细菌进入细胞之前，可以阻断细菌侵入细胞内。再者，胞内菌在细胞内大量繁殖后会导致宿主细胞破坏，释放出细菌，再感染其他细胞。这时抗体可在胞外阻断细菌对其他细胞的感染。因此，抗体对于阻断胞内菌的扩散是有积极作用的。

第四节　感染的发生与发展

一、感染源与传播

感染的发生首先要有感染源。根据感染源来源不同，感染可分为**外源性感染**（exogenous infection）和**内源性感染**（endogenous infection）。

（一）感染源

1. 外源性感染　外源性感染的感染源来自宿主体外，多由一些毒力较强的病原菌引起。外源性传染源多来自：

（1）患者：患者是传染源的主要来源。患者在感染后从潜伏期一直到病后的一段恢复期均有可能将感染源排出污染外环境或通过接触传播给周围正常人。但一般在患者感染初期，其传染性最强，因此及早对患者作出诊断并采取防治措施对控制外源性感染有重要意义。

（2）带菌者：有些人感染某些病原体后，不表现出任何临床症状或症状很轻，不被感染者自己发现，因而成为**带菌者**（carrier）。有些传染病（如流行性脑膜炎、伤寒、白喉等）患者恢复后在

笔记

一段时间内仍继续带菌、排菌，成为带菌者。由于带菌者没有临床症状，不易被人们察觉，因此是很重要的传染源，其危害性往往超过患者。及时检出带菌者并进行治疗或隔离是必要的。

(3) 病畜及带菌动物：某些细菌可引起人兽共患病，病畜或野外带菌动物的病原菌可传染给人，例如鼠疫、炭疽等属于这种情况。

2. 内源性感染 指由来自患者自身体内或体表的细菌所引起的感染。引起内源性感染的病原体大多为正常菌群内的细菌，少数是以潜伏状态存在于体内的致病菌。临床治疗中大量使用抗生素导致菌群失调以及各种原因导致机体免疫功能下降，如老年人、癌症晚期患者、艾滋病患者、器官移植使用免疫抑制剂者均易发生内源性感染。

(二) 传播途径

不同的感染源可经过不同的传播途径在人与人之间、人与环境之间或动物与人体之间引起传播。常见的传播途径有：

1. 呼吸道 许多病原菌可从患者、带菌者的痰液、唾液等分泌物，通过气溶胶、空气飞沫及沾染有病原菌的尘埃等方式进入呼吸道引起感染。如链球菌、结核分枝杆菌、嗜肺军团菌等均可经呼吸道途径感染和传播。

2. 消化道 某些病原菌从消化道进入，又从消化道排出，进而污染食品、饮水等，再通过污染的食品、饮水等又传入新的宿主，构成“粪 – 口传播途径”。这些病原菌都是能够抵抗胃酸和胆汁并在外界有一定存活能力的微生物，例如肠道埃希菌、沙门菌等。

3. 皮肤黏膜损伤 皮肤黏膜的损伤、烧伤、动物咬伤等可导致病原菌入侵，如致病性葡萄球菌、链球菌等引起的化脓性感染。泥土、人和动物粪便中可有破伤风梭菌、产气荚膜梭菌的芽胞，当芽胞进入深部伤口会发芽繁殖，引起疾病。

4. 经节肢动物媒介 如鼠蚤传播的鼠疫耶尔森菌；虱传播流行性斑疹伤寒立克次体等都是经节肢动物媒介进行传播的。

5. 性传播 性传播主要是指通过人类性行为方式引起的传播，这些疾病称为**性传播疾病**(sexually transmitted diseases，STD)。引起 STD 的微生物，除细菌外，一些病毒、支原体、衣原体、螺旋体等也引起 STD，是人类面临的重大公共卫生问题。

6. 多途径传播 某些细菌可经多途径传播引起感染，如结核分枝杆菌、炭疽杆菌等可经呼吸道、皮肤创伤、消化道等多途径感染。

二、感染的发生

感染是否发生以及发生后的转归取决于三方面的因素：一是机体的免疫状态，这在上节已有介绍；二是细菌因素，包括毒力、数量与侵入途径；三是环境、社会因素的影响。下面介绍后两个方面的因素：

(一) 细菌因素

就病原体方面而言，是否引起感染，决定于三方面：

1. 细菌的毒力 毒力越强，引起疾病的可能性越大，引起的疾病也越严重。有关细菌的毒力，已在前节做了较详细的介绍，此不赘述。

2. 侵入细菌的数量 不难理解，侵入的细菌数量越大，引起疾病的可能性也越大。通常，细菌毒力愈强，引起感染所需的细菌数量愈小；反之，细菌的毒力越弱，引起疾病所需的细菌数量就愈大。例如，毒力强大的鼠疫耶尔森菌可能只要数个细菌或数百个细菌就可引起感染；而毒力较弱的某些引起食物中毒的沙门菌，常需摄入数亿个细菌才引起急性胃肠炎。

3. 细菌的侵入门户与部位 各种致病菌都有其特定的侵入门户与部位，这与致病菌需要特定的生长繁殖的微环境有关。即使具有一定的毒力且有足够数量的致病菌，若侵入易感机体的门户不对，仍然不能引起感染。例如痢疾杆菌必须经口进入才能引起人体痢疾，而经皮肤伤口

笔记

则不会引起疾病；脑膜炎奈瑟菌需通过呼吸道进入致病；破伤风梭菌需进入深部创伤，在厌氧环境中繁殖才能致病。也有一些致病菌的侵入途经不止一种，称为多途径感染病原菌。例如，结核分枝杆菌与炭疽芽胞杆菌，经呼吸道、消化道、皮肤创伤等部位都可以引起感染。与单一途径感染的病原菌相比，多途径感染病原菌的传染性较强，预防也更加困难。

（二）社会和环境因素

社会因素对感染的发生和传染病的流行影响也很大。战争、灾荒、动乱等可促使传染病的发生和流行。若改善生活和劳动条件，开展防病的卫生运动，有利于提高人类健康水平，传染病的发病率会逐渐下降。

环境因素包括气候、季节、温度、湿度和地理条件等诸方面。例如季节不同，流行的传染病种类就不同。冬季易发生呼吸系统传染病，是因寒冷能降低呼吸道黏膜的抵抗力。同时，室内活动较多，门窗经常关闭，空气流动少，也增加与致病菌接触的机会。夏季气温高，利于苍蝇、蚊虫等孳生，增多传播机会。有些传染病有地区性，例如森林地区存在着野生动物和吸血昆虫，出现人兽共患传染病的机会较多。人口密度增加、人口流动增强会促使传染病的流行。若空气、水源发生污染，居住环境恶化，则易引起感染性疾病的发生。保护人类生存的环境，就是保护人类自己。

三、感染的类型

感染的发生、发展与结局，是宿主机体同病原菌在一定条件下相互作用和较量的过程。根据两者力量的对比，可以出现**隐性感染**（inapparent infection）、**显性感染**（apparent infection）和**带菌状态**（carrier state）等不同感染类型和临床表现，并可随着双方力量的增减而出现动态变化。

（一）隐性感染

当机体的抗感染免疫力较强，或侵入的病菌数量不多、毒力较弱，感染后对机体损害较轻，不出现或出现不明显的临床症状，称为**隐性感染**，或称**亚临床感染**（subclinical infection）。隐性感染后，机体常可获得足够的特异免疫力，能抗御相同致病菌的再次感染。在每次传染病流行中，隐性感染者一般约占人群的90%或更多。结核、白喉、伤寒等常有隐性感染。

（二）显性感染

当机体抗感染的免疫力较弱，或侵入的致病菌数量较多、毒力较强，以致机体的组织细胞受到不同程度的损害，生理功能也发生改变，并出现一系列的临床症状和体征，称为**显性感染**。由于不同个体抗病能力和病菌毒力等存在着差异，因此，显性感染可有轻、重、缓、急等不同模式。

1. 临床上按病情缓急不同可将显性感染分为急性感染和慢性感染。

（1）**急性感染**（acute infection）：发作突然，病程较短，一般是数日至数周。病愈后，致病菌从宿主体内消失。**急性感染**的致病菌有脑膜炎奈瑟菌、霍乱弧菌、肠产毒素性大肠埃希菌等。

（2）**慢性感染**（chronic infection）：病程缓慢，常持续数月至数年。胞内菌往往引起**慢性感染**，例如结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌等。

2. 临床上按感染的部位不同可将显性感染分为局部感染和全身感染。

（1）**局部感染**（local infection）：致病菌侵入机体后，局限在一定部位生长繁殖并引起病变。例如化脓性球菌所致的疖、痈等。

（2）**全身感染**（generalized infection，systemic infection）：多由胞外菌感染引起，致病菌或其毒性代谢产物向全身播散引起全身性症状的一种感染类型。临床上常见的有下列几种情况：

1）**毒血症**（toxemia）：致病菌侵入宿主体内后，**只在机体局部生长繁殖，病菌不进入血液循环，但其产生的外毒素入血**。外毒素经血到达易感的组织和细胞，引起特殊的毒性症状。例如白喉等。

2）**内毒素血症**（endotoxemia）：**革兰阴性菌**侵入血流，并在其中大量繁殖、崩解后释放出大量

笔记

内毒素；也可由病灶内大量革兰阴性菌死亡、释放的内毒素入血所致。在严重革兰阴性菌感染时，常发生内毒素血症。

3）**菌血症**（bacteremia）：致病菌由局部侵入血流，但**未在血流中生长繁殖**，只是短暂的一过性通过血液循环到达体内适宜部位后再进行繁殖而致病。例如伤寒早期有菌血症期。

4）**败血症**（septicemia）：致病菌侵入血流后，**在其中大量繁殖并产生毒性产物**，引起全身性中毒症状，例如高热、皮肤和黏膜瘀斑、肝脾肿大等。鼠疫耶尔森菌、炭疽芽胞杆菌等可引起败血症。

5）**脓毒血症**（pyemia）：指**化脓性病菌**侵入血流后，在其中**大量繁殖**，并通过血流扩散至宿主体内的其他组织或器官，产生新的**化脓性病灶**。例如金黄色葡萄球菌的脓毒血症，常导致多发性肝脓肿、皮下脓肿和肾脓肿等。

（三）带菌状态

有时致病菌在显性或隐性感染后并未立即消失，在体内继续留存一定时间，与机体免疫力处于相对平衡状态，称为**带菌状态**，该宿主称为**带菌者**（carrier）。带菌者没有临床症状但经常会间歇排出病菌，是感染性疾病中重要的传染源。伤寒、白喉等病后常可出现带菌状态。

第五节 医院感染

医院感染（hospital infection，nosocomial infection）是指患者或医务人员在医院环境内发生的感染。医院感染是伴随着医院建立而发生的问题。近年来，随着医疗活动的复杂化，医院感染率和死亡率居高不下，影响了医疗质量，加重了患者和国家的经济负担。医院感染已成为当今医院面临的一个突出的公共卫生问题。从医学微生物学的角度出发，提出对医院感染的监测、预防和控制措施，有着重要的临床实际意义。

一、医院感染的分类

根据引起感染的微生物来源不同，可将医院感染分为**内源性和外源性医院感染**两大类。

（一）内源性医院感染

内源性医院感染（endogenous nosocomial infection）亦称**自身感染**（self-infection）是指患者在医院内由于某种原因，自身体内寄住的微生物（包括正常菌群和潜伏的致病性微生物）大量繁殖而导致的感染。内源性医院感染的病原体主要是正常菌群，它们因毒力很弱或无毒，一般不引起健康人感染。但当其发生定位转移、菌群失调或机体免疫功能下降的特定机会下，正常菌群即可成为**机会致病菌**而引起各种内源性感染。

（二）外源性医院感染

外源性医院感染（exogenous nosocomial infection）是指患者在医院环境内遭受医院内非自身存在的微生物侵入而发生的感染。外源性医院感染又可分为：

1. **交叉感染**（cross infection） 是指患者之间或患者与医护人员之间通过咳嗽、交谈，特别是经手等方式密切接触而发生的直接感染，或通过生活用品等物质而发生的间接感染。

2. **环境感染**（enviromental infection） 是指在医院环境内，因吸入污染的空气、或接触到受污染的医院内设施而获得的感染。医院是一个人口密集、人员流动性大且疾病种类众多的公共场所。因此医院是一个容易发生污染的特殊环境，很容易造成病原体在人群中播散而导致感染。

二、医院感染的微生态特征

（一）主要为机会致病菌

引起医院感染的病原体主要是条件致病菌，包括医院环境中的病原体和患者体内的内源性

笔记

机会致病菌。引起医院感染的病原体中，细菌约占 90% 以上，且以革兰阴性杆菌为主。此外，病毒、真菌、衣原体、支原体和原虫等亦有可能引起医院感染。引起医院感染的常见微生物见表 6–5。

表 6–5 医院感染常见的微生物

感染类型	微生物名称
泌尿道感染	大肠埃希菌、克雷伯菌、沙雷菌、变形杆菌、铜绿假单胞菌、肠球菌、白假丝酵母菌等
呼吸道感染	流感嗜血杆菌、肺炎链球菌、分枝杆菌、鲍曼不动杆菌、呼吸道病毒等
伤口和皮肤脓毒症	金黄色葡萄球菌、链球菌、变形杆菌、厌氧菌、凝固酶阴性葡萄球菌等
胃肠道感染	沙门菌、宋内志贺菌、病毒等

(二) 常具有耐药性

从医院感染患者分离的细菌，大多数具有耐药性，部分还是多重耐性。例如常引起医院感染的铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌、白假丝酵母菌等都容易对多种抗生素耐药。

(三) 常发生种类的变迁

医院感染的微生物种类常随着抗生素使用品种的不同而发生变迁。在 20 世纪 50~60 年代，世界范围内医院感染的主要病原菌为革兰阳性球菌。70~80 年代以后，国内外医院感染微生物均以革兰阴性杆菌为主。另外，目前白假丝酵母菌和鲍曼不动杆菌亦常引起医院感染。

三、医院感染的危险因素

(一) 医院是医院感染易感对象的集中地

医院环境存在大量医院感染的易感对象。这些易感对象多与他们年龄或基础疾病(原有疾病)有关。

1. 年龄因素 老年人和婴幼儿易发生医院感染。老年人随着年龄的增长、器官老化、功能衰退，免疫功能也随之降低，而且常伴有慢性疾病。婴幼儿因免疫器官发育欠成熟，功能未健全，从母亲获得的被动免疫力(IgG)逐渐消失。因此，这两类人群较易发生医院感染。

2. 基础疾病 住院患者常常患有一些基础性疾病，如免疫缺陷性疾病、代谢性疾病(如糖尿病)、内分泌功能失调、器官移植、恶性肿瘤、尿毒症等。他们的免疫功能常常出现紊乱或低下，这些患者很容易在住院期间发生医院感染。

(二) 诊疗技术和侵入性检查与治疗易导致医院感染

1. 诊疗技术 易引起医院感染的诊疗技术主要包括两类。

(1) 器官移植：医院感染是器官移植患者最常见的并发症，也是造成患者手术失败及死亡的主要原因。因患者术前常有基础疾病而免疫功能低下，加上手术创伤以及为防止排斥反应而采用免疫抑制剂等原因，导致免疫功能进一步降低。

(2) 血液透析和腹膜透析：这是治疗患者肾功能不全、尿毒症的重要手段。此类患者已有基础疾病和免疫功能低下，再进行这种创伤性治疗操作，故患者极易医院感染。

2. 侵入性(介入性)检查与治疗

(1) 侵入性检查：支气管镜、膀胱镜、胃镜等**侵入性检查**是引起患者医院感染的危险因素。一方面破坏了黏膜屏障，将这些部位正常菌群带入相应检查部位，另一方面因器械消毒灭菌不彻底，可将污染的微生物带入检查部位而造成感染。

(2) 侵入性治疗：气管切口或气管插管、留置导尿管、大静脉插管、伤口引流管、心导管及人工心脏瓣膜等均属**侵入性治疗用品**，不仅破坏皮肤黏膜屏障引起感染，而且更重要的是，这些侵入性治疗所用的生物材料很容易引起细菌等的黏附。细菌黏附后通过产生分泌胞外多糖，细菌相互粘连形成**细菌生物被膜**，导致细菌对抗生素的敏感性显著下降，并能逃逸机体免疫系统的

笔记

杀伤作用,故常导致医院感染,且常呈现慢性或反复发作特点。

3. 损害免疫系统的因素

(1) 放射治疗:放射治疗对肿瘤组织无选择性作用,在损伤肿瘤组织的同时也破坏了正常组织,损害了免疫系统,降低了免疫功能。

(2) 化学治疗:采用**细胞毒药物**治疗恶性肿瘤,这类化疗药物亦可作用于正常组织细胞,损伤和破坏免疫系统的功能。主要有烷化剂类、抗代谢类等药物。

(3) 激素的应用:主要是**肾上腺皮质激素**,它具有抗炎作用、免疫抑制作用及抗休克作用,临床常用来治疗急危重病症、自身免疫病及过敏性反应等。但这类药物也是**免疫抑制剂**,使用不当或长期使用,也会引起医院感染。

4. 其他危险因素 **抗生素使用不当**,甚至滥用;进行外科手术及各种引流,以及住院时间过长,长期使用呼吸机等都是医院感染的危险因素。

四、医院感染的预防和控制

目前国际上普遍认为易感人群、环境及病原微生物是发生医院感染的主要因素。在一定意义上讲,控制医院感染危险因素是预防和控制医院感染最有效的措施。国内外预防和控制感染的具体作法主要是消毒灭菌、隔离、净化以及对媒介因素与易感人群等采取相应措施。为此,我国在预防控制医院感染方面制定和颁布了一系列法规,主要包括消毒灭菌、合理使用抗生素、医院重点部门管理的要求,以及一次性使用医用器具和消毒药械、污水及污物处理等管理措施。

(一) 消毒灭菌

在医院的常规诊疗过程中,必须严格执行**无菌操作技术**,加强对中心供应室和临床科室的消毒,对污物和污水的处理要进行监管,其中尤其要注意:

1. 进入人体组织或无菌器官的医疗用品必须灭菌;接触皮肤黏膜的器械和用品必须消毒。提倡使用一次性注射器、输液器和血管内导管。

2. 污染医疗器材和物品,均应先消毒后清洗,再消毒或灭菌。

3. 医务人员要了解消毒剂的性能、作用以及使用方法。配制时,应注意有效浓度、作用时间及影响因素。要警惕有耐消毒剂的病原微生物存在。

4. 连续使用中的氧气湿化瓶、雾化器、呼吸机及其管道等,应定期消毒;湿化液应每日更换灭菌水;用毕需终末消毒,干燥保存。

5. 消毒灭菌后,应进行效果监测。

6. 强调经常洗手,注意手部皮肤清洁和消毒。接触传染是导致医院感染的最重要因素。不能因为医务人员的诊疗行为导致病人的医院感染。

(二) 隔离预防

隔离预防是防止病原微生物从患者或带病原者传给其他人群的一种保护性措施。医院感染的隔离预防应以**切断感染的传播途径**作为制定措施的依据,同时考虑病原微生物和宿主因素的特点。

(三) 合理使用抗菌药物

抗菌药物是医院内应用最广泛的一类药物。抗菌药物使用不当是造成医院感染的重要原因,**合理使用抗菌药物**是降低医院感染率的有效手段。

医院感染的预防及控制除采取上述措施外,还应对医院重点部门,如急诊室、重症监护室、治疗室、婴儿室、手术室、检验科、供应室等密切监测和预报。此外,一次性使用的医用器具、医院污物等应按照有关部门的规定和要求来规范化管理或毁坏处理,以期切断医院感染的传播途径,有效预防及控制医院感染。

笔记

(胡福泉)

第七章 细菌感染的检测方法与防治原则

对病原微生物进行分离和准确的鉴定，必要时进行药物敏感试验和毒力检查等，有助于对感染性疾病进行病因学诊断、指导合理用药及观察治疗效果，也可为传染病的流行病学调查提供可靠的依据。细菌感染的实验室检查程序包括标本的正确采集、病原菌的分离培养、形态学检查、代谢产物和毒素测定、细菌抗原及其核酸检测、机体免疫应答产物（抗体）的检测等。在实际工作中，可根据具体情况选用相应的实验技术和方法。对细菌感染性疾病的预防原则主要是通过特异性预防，即接种疫苗、类毒素等制剂使机体获得特异性免疫力。用于人工免疫的疫苗、类毒素、免疫血清、细胞制剂以及诊断用品（结核菌素、诊断血清、诊断菌液等）等生物性制剂统称为**生物制品**（bioproduct）。

第一节 细菌感染的实验室诊断

医生根据临床上诊断和治疗的需要选择不同的标本和检查方法进行实验室诊断，从而鉴定出感染的病原菌。实验室诊断主要包括以检测病原菌及其抗原、代谢产物或核酸为目的的**细菌学诊断**（bacteriological diagnosis）和检测患者血清中特异性抗体的**血清学诊断**（serological diagnosis）（图 7-1）。

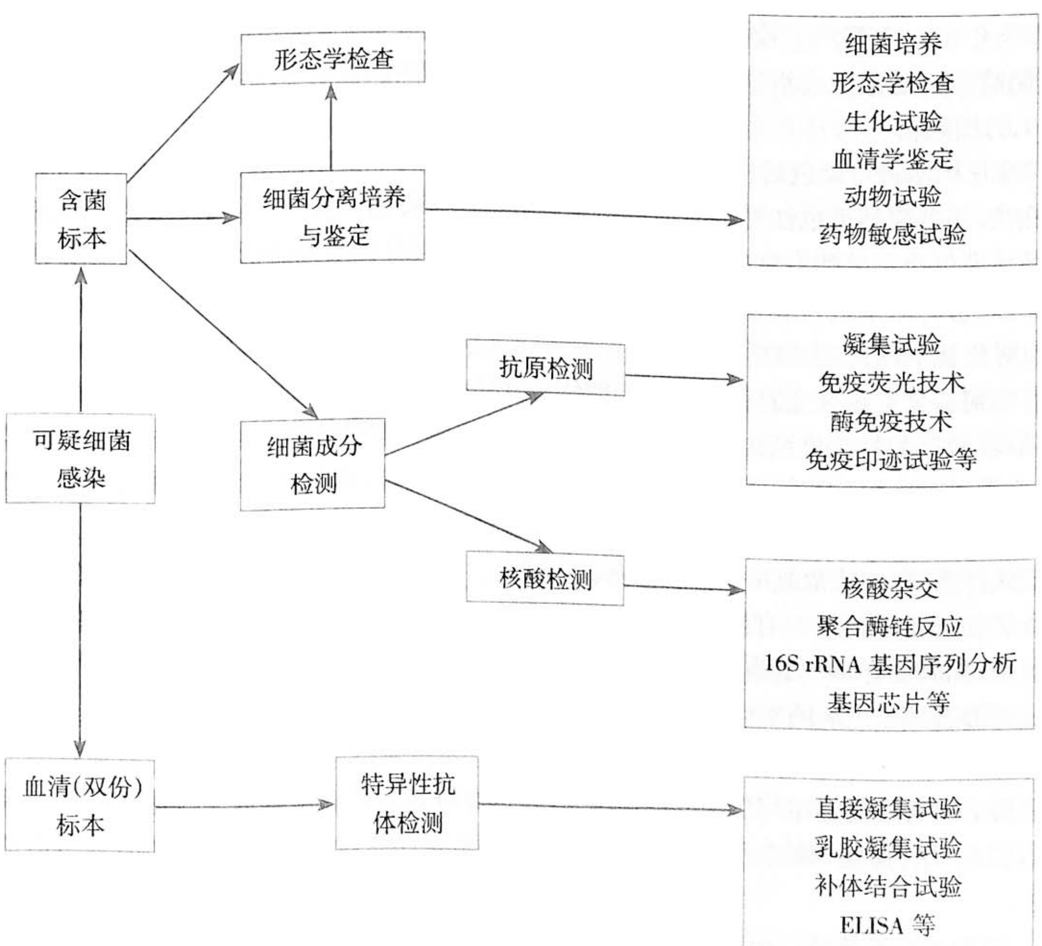


图 7-1 细菌感染的实验室检验方法

笔记

一、临床标本的采集与运送原则

临床标本(specimen)的**采集与送检**方法的正确与否直接关系到检测结果的准确性。采集标本进行病原学和血清学检验,应注意以下原则:

1. **早期采集** 尽可能在疾病早期、急性期或症状典型时以及使用抗菌药物之前采集标本。

2. **无菌采集** 严格进行无菌操作,将采集的标本置于无菌容器中,避免标本被杂菌污染。

3. **采集适当标本** 根据不同疾病以及疾病的不同时期采集目的菌标本。例如流行性脑膜炎病人取脑脊液、血液或出血瘀斑;伤寒病人在病程 1~2 周内取血液,2~3 周时取粪便。

4. **采集双份血清** 检查病原体的特异性 IgG 抗体时,应采集急性期和恢复期双份血清,只有当恢复期血清抗体效价比急性期的效价明显升高达 4 倍或以上时具有诊断价值。检测特异性抗体的血清标本应保存在 −20℃冰箱。

5. **尽快送检** 大多数细菌标本可以冷藏送检,但对某些不耐寒冷的细菌,如淋病奈瑟菌、脑膜炎奈瑟菌送检中要注意保温,为提高该致病菌的检出率,最好床旁接种。粪便标本中含杂菌多,常置于甘油缓冲盐水**保存液**中。因采集的标本存在病原菌或潜在病原菌,应放在密闭不易碎的容器内送检。

6. 标本做好标记,在相应化验单上详细填写标本种类、检验目的和临床诊断,以保证各环节准确无误。

二、细菌的检测

(一) 细菌形态学检查

形态学检查包括**不染色标本**和**染色标本**的检查法。

不染色标本主要用于检查在生活状态下细菌的动力及其运动情况,常采用**压滴法**和**悬滴法**,可用**暗视野显微镜**或**相差显微镜**观察。如疑似有霍乱弧菌或螺旋体的标本,可采用不染色标本的方法检测。

对涂片标本进行染色后检查在细菌的鉴定中应用最多,可观察到菌体形态、大小、排列方式和染色性,并根据其染色性对细菌进行初步分类。细菌染色法有多种,**革兰染色法**是最常用的分类鉴别染色法。**抗酸染色法**是鉴别结核和麻风等分枝杆菌属细菌的重要方法。**荧光染色法**敏感性强,易对结果进行观察。主要用于结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌和白喉棒状杆菌等的检测。如对痰标本涂片、固定后,用金胺 O–罗丹明 B 法(也称荧光金胺 O 法)染色,在荧光显微镜下可观察到呈金黄色荧光的菌体,此法可提高结核分枝杆菌的检出率。另有检测荚膜、鞭毛、芽胞、异染颗粒等的特殊染色法。凡在形态和染色性上具有特征的致病菌,可以直接涂片染色后镜检,若见到有典型的菌体形态、排列、染色性即可做出初步诊断。例如痰中查见抗酸性细长杆菌,脓液中发现革兰阳性葡萄串状球菌,或咽喉假膜中有异染颗粒的棒状杆菌时,可分别初步诊断为抗酸杆菌、葡萄球菌或白喉棒状杆菌。

虽然临床常采用标本直接涂片染色镜检,但该法对部分形态、染色性无特征的细菌无法区分和鉴别,如粪便标本中肠道致病性革兰阴性杆菌的形态和染色性缺乏明显特征,且种类繁多,不能仅凭形态学做出病原学诊断。

(二) 细菌分离培养与鉴定

原则上所有送检标本均应作分离培养,以获得**纯培养**后进一步鉴定。根据不同疾病采取不同标本如血、尿、粪便、咽拭子以及脑脊液等进行细菌的分离和鉴定,是确诊细菌性感染最可靠的方法。

1. **细菌的分离培养** 细菌培养时应选择适宜的培养基,以便提供特定细菌生长所需的必要条件,例如,培养基的成分和 pH、培养的时间、温度等,应给厌氧菌提供一个厌氧环境。通过分

笔记

离培养获得单个菌落进行纯培养。根据菌落的大小、形态、颜色、表面性状、透明度和溶血性等对细菌做出初步的鉴别。如化脓性链球菌在血液琼脂平板上生长出小而透明的菌落，菌落周围有完全溶血环。肠道细菌在选择培养基上长出的菌落颜色、大小、透明度等有区别。但最后确诊还须进行涂片染色后镜检、生化反应和血清学鉴定。

2. 生化试验　细菌对糖类和蛋白质的分解产物不完全一样，故有关酶类和代谢产物可作为鉴别细菌的重要依据之一。例如肠道感染的细菌一般为革兰阴性菌，它们的染色性、镜下形态和菌落特征基本相同，但各种肠道致病菌对不同种类的**糖发酵**能力不同，可利用含不同糖的培养基进行**生化反应**，其结果可作为进一步鉴别的依据。

3. 血清学鉴定　利用**已知的特异性抗体**检查**未知的纯培养细菌**，不仅能对分离培养的细菌进行种的鉴定，还可以进一步对细菌进行群和型的鉴别。如用志贺菌属、沙门菌属等的特异性多价、单价**诊断血清**，与分离的待检菌作玻片凝集试验，鉴定菌种和确定菌型，是细菌学检验的常规方法。

4. 动物试验　一般不作为临床标本的细菌学常规检查技术，但对测定细菌的毒力或致病性有重要意义，故可选敏感动物用于疑难的病原菌分离或微生物学的研究。

5. 药物敏感试验　不同病原菌对抗菌药物的敏感性不同，即使同一种细菌的不同菌株对抗菌药物的敏感性也存在差别。**药物敏感试验**（简称药敏试验）是测定抗菌药物在体外对病原微生物有无抑菌或杀菌作用的方法，对指导临床选择用药，及时控制感染有重要意义。常用的方法包括纸片扩散法、稀释法、抗生素连续梯度（E-test）法和自动化仪器法。**纸片扩散法**是将含有定量抗生素的纸片贴在已接种待检病原菌的琼脂平板上，纸片上的抗生素向周围琼脂中扩散，形成了逐渐减小的药物浓度梯度。由于致病菌对各种抗生素的敏感程度不同，在药物纸片周围便出现抑制病原菌生长而形成的大小不同的**抑菌环**。根据抑菌环的有无和大小来判定试验菌对该抗菌药物耐药或敏感。**稀释法**是将抗生素在液体培养基或琼脂培养基中稀释，接种细菌进行培养，以抗菌药物的**最高稀释度**仍能抑制细菌生长或杀菌为终点，该培养基含药浓度即为试验菌的**最低抑菌浓度**（minimum inhibitory concentration，MIC）或**最低杀菌浓度**（minimum bactericidal concentration，MBC）。MIC 和 MBC 的值越低，表示细菌对该药越敏感。近几年采用的 **E-test 法**是一种定量的抗生素药敏测定新技术，其原理是将稀释法和扩散法的原理相结合，使用预先设定的稳定且连续的抗菌药物浓度梯度，采用琼脂培养基培养以确定不同抗菌药物对微生物的最低抑菌浓度（MIC），结果更加精确，重复性更好。

6. 自动微生物鉴定和药敏分析系统　随着现代化技术的发展，细菌检测的技术水平也不断地提高，正在逐步实现快速化、微量化、自动化和标准化。目前**自动化微生物鉴定和药敏分析系统**已在世界范围内临床实验室中广泛应用。**微生物编码鉴定技术**是自动微生物鉴定系统的基础。该技术集数学、电子、信息及自动分析技术于一体，将细菌的生化反应模式转换为数学模式，给每种细菌的反应模式赋予一组数码，构建**数据库**。将培养基上分离的可疑致病菌配制成纯菌液，放入自动微生物鉴定及药敏分析系统中，计算机对待检标本中的未知细菌进行生化反应的结果转换成数字，与数据库中的**细菌条目**比对并计算出现频率的总和，将细菌鉴定到属、群、种和亚种或生物型。自动化抗生素敏感性分析的实质是**微型化的肉汤稀释试验**，观察细菌在各药物浓度下的生长情况，经回归分析得到最低抑菌浓度，并根据判断标准得出药物敏感结果。微生物自动鉴定及药敏分析系统包括测试卡（板）、菌液接种器、培养和监测系统以及数据管理系统，一般 24 小时内即可完成从微量培养细菌、自动监测、记录到打印出细菌鉴定和药敏结果的全过程，能准确鉴定出一般医院常见的致病菌，而且适用于难以培养细菌的鉴定以及药物敏感试验。

（三）细菌抗原的检测

抗原的检测　多种免疫学实验技术可用于细菌抗原的检测，其原理是用已知的特异性抗体

笔记

检测未知的细菌抗原成分，可直接使用临床标本或在细菌分离培养后进行。常用的方法有玻片凝集试验、协同凝集试验、间接血凝试验、乳胶凝集试验、对流免疫试验、酶免疫技术和免疫荧光技术等。这些试验特异、敏感、简便，即使是在患者使用了抗生素后采集标本，对细菌的培养不易成功的情况下，细菌抗原仍能被检测出来。通过检出病原菌的抗原成分并结合临床可对细菌感染性疾病做出病原学诊断。

（四）细菌核酸的检测

不同种的细菌具有不同的基因组结构，可通过测定细菌的**特异基因序列**进行比较和鉴定。常用的方法有**聚合酶链反应**、**核酸杂交**、**16S rRNA 基因序列分析**和**基因芯片**等，常用于检测不能在体外培养或目前的培养技术不敏感、费用高昂或耗时长的病原体。

1. **聚合酶链反应**（PCR） **PCR 技术**具有快速、灵敏和特异性强等特点，实时荧光定量 PCR 技术（real-time PCR）可以检测出病原菌核酸的拷贝数，从而进行细菌定量。PCR 方法可用于常规培养困难或耗时太长的病原体以及细菌毒素基因的检测，如结核分枝杆菌、淋病奈瑟菌、肠产毒素性大肠埃希菌和军团菌等的特异性 DNA 片段。

2. **核酸杂交技术** 可从标本中直接检出病原菌基因，不受标本中的杂质干扰，对尚不能或难分离培养的病原菌尤为适用。现已将此技术应用于检测结核分枝杆菌、幽门螺杆菌、空肠弯曲菌和致病性大肠埃希菌等致病菌。

3. **16S rRNA 基因序列分析**（16S rRNA gene sequence analysis） 编码核糖体 RNA（rRNA）相对应的染色体上 DNA 序列存在于所有细菌、衣原体、立克次体、支原体、螺旋体及放线菌等原核生物的染色体基因中，不存在于病毒、真菌等非原核生物体内。原核生物 rRNA 包括 5S rRNA、16S rRNA 和 23S rRNA 3 种类型，其中 **16S rRNA 基因**具有多拷贝、多信息、长度适中的特点。16S rRNA 基因由**可变区**和**保守区**组成，保守区为所有细菌所共有，细菌之间无差别，可据此设计**通用引物**（universal primer，up）。基因的可变区具有属或种的特异性，可据此设计引物、探针，对细菌进行系统分类和检测。16S rRNA 序列分析技术的基本原理就是分离细菌样本中 16S rRNA 的基因片段，通过克隆、测序或酶切、探针杂交获得 16S rRNA 序列信息，再与 16S rRNA **数据库**中的序列进行比对，确定其在进化树中位置，从而鉴定样本中可能存在的微生物种类。随着微生物核糖体数据库的日益完善，该技术成为细菌分类和鉴定的一个有力工具。在临床上可用于检测分离培养困难或周期过长的细菌（如结核分枝杆菌）或用常规试验方法难以区别的致病菌。但 16S rRNA 的进化速度缓慢，基因序列相对保守，对相近种或同一种内的不同菌株则很难区分，需要进一步的生理生化试验或其他方法作为补充。

（五）生物芯片技术

生物芯片是指核酸片段、蛋白质或酶、抗原或抗体、细胞及组织等生物样品有序地固定于硅片、尼龙膜等固相支持物上。在一定的条件下进行生化反应，如核酸杂交反应、抗原、抗体特异性反应等。反应结果用化学荧光法、酶标法或同位素法显示，通过特定的仪器如共聚焦扫描仪或电荷偶联摄像机（CCD）等光学仪器进行数据读取与收集，最后经专门的计算机软件进行数据分析，从而判断样品中靶分子的种类和数量。与传统的检测方法相比，生物芯片具有高通量、多样性、微型化、自动化等特点。

按生物芯片材料和支持物的类型可分为固态生物芯片和液态生物芯片等。根据检测分析的生物组分不同，生物芯片分为：①基因芯片（gene chip）：又称 DNA 芯片（DNA chip，DNA microarray）：是根据核酸杂交的原理，将大量探针分子固定于支持物上，然后与标记的样品进行杂交，通过检测杂交信号即可实现对生物样品的分析。②蛋白质芯片（protein chip）：是指将蛋白质或多肽有序地固定在固相载体的表面形成微阵列，用已标记荧光的蛋白质或其他分子与之作用，经荧光扫描等检测方式测定并分析蛋白质之间或蛋白质与其他分子之间的相互作用关系。③细胞芯片（cell chip）：是将细胞密集排列于玻片上，在芯片上完成对细胞的捕获、固定、平衡、运

笔记

输、刺激及培养等精确控制，并通过微型化的化学分析方法，实现对细胞样品的高通量、多参数、连续原位信号检测和细胞组分的理化分析等研究目的。④组织芯片(tissue chip)：也称组织微阵列，可以将大量不同个体来源的组织标本以规则阵列方式密集排列在一张玻片进行分析研究，可以与 DNA、RNA、蛋白质、抗体等检测技术相结合，在基因、基因转录和相关表达产物的生物学功能三个水平上进行研究。⑤糖芯片(carbohydrate microarray)：根据糖结合蛋白(如凝集素)和糖之间的特异性识别作用，将糖或糖复合物固定于芯片上，再用预处理的蛋白进行杂交，检测杂交信号，分析糖与蛋白质的相互作用或其结构。根据展示在芯片上糖的特征，糖芯片可以分为单糖芯片、寡糖芯片、多糖芯片和复合式芯片。

生物芯片在医学微生物学中的应用包括：①微生物感染的快速诊断：对某些病原体，如细菌、真菌和病毒进行多重快速检查与鉴别；②微生物变异机制和耐药机制的研究；③微生物基因分型及分子流行病学的调查；④微生物基因组及后基因组的研究：可分析基因序列，研究病原体基因的转录表达、抗原的表达及细菌糖键的特异性研究；⑤抗微生物感染药物的研制等。

（六）其他检测法

噬菌体对细菌分型；细菌 L 型的检测；细菌其他代谢产物的检测，如**气相色谱法**鉴别厌氧细菌、^{13}C、^{14}C 呼吸试验检测幽门螺杆菌产生的尿素酶等。

三、细菌感染的血清学诊断

用已知的细菌或其特异性抗原检测病人血清或其他体液中的抗体及其**效价**的变化，可以作为感染性疾病的辅助诊断。由于多采取病人血清检测抗体，故常称为**血清学诊断**。血清学诊断一般适用于抗原性较强的细菌，以及病程较长的感染性疾病；也可用于调查人群对某病原菌的免疫应答水平以及检测疫苗接种后的预防效果。

在血清学诊断中，通常采取**双份血清**检测。因为在传染病流行区，健康人群由于某些病原菌的隐性感染或近期曾接受预防接种，其抗体水平普遍较高，单份血清往往不能区分现症感染或既往感染。**如果恢复期或一周后血清抗体效价比早期升高 4 倍以上(含 4 倍)时，则可确认为现症感染**。血清抗体效价受多种因素影响，如早期应用抗菌药物及年老、体弱、免疫功能低下等情况。此时感染后抗体效价可无明显升高，故抗体效价低时不要轻易否定。血清学诊断方法较多，常根据病原菌种类进行选择。常用于细菌感染的血清学诊断有：**直接凝集试验**(诊断伤寒、副伤寒的肥达试验、检测立克次体的外斐试验、诊断钩端螺旋体病的显微凝集试验等)；**补体结合试验**(检测 Q 热柯克斯体等抗体)；**中和试验**(诊断链球菌性风湿热的抗 O 试验等)和**酶联免疫吸附试验(ELISA)**。ELISA 具有技术简便、特异性强、敏感性高、重复性好、可检测大量标本、易于自动化操作等特点，已广泛应用于细菌、病毒等多种病原体的微生物学诊断和流行病学调查。

第二节 细菌感染的特异性预防

特异性预防是应用**适应性免疫**的原理，给机体注射或服用某种病原微生物抗原(包括类毒素)或注射特异性抗体，以达到防治感染性疾病的目的，这种方法称为**人工免疫**(artificial immunization)，根据其免疫产生的方式进一步又分为**人工主动免疫**(artificial active immunization)和**人工被动免疫**(artificial passive immunization)。采用人工主动免疫方法通常称为**预防接种**(prophylactic inoculation)或**疫苗接种**(vaccination)。

一、人工主动免疫

人工主动免疫是将抗原性物质(**疫苗或类毒素**)接种于人体，刺激机体免疫系统产生特异性免疫应答，从而对相应病原体感染产生特异性预防作用的措施。

笔记

(一) 疫苗

疫苗的种类很多。按其生产技术，疫苗可分成传统疫苗和新型疫苗两类。传统疫苗是指采用病原微生物及其代谢产物，经过人工减毒、脱毒、灭活等方法制成的疫苗，如死疫苗、减毒活疫苗等。新型疫苗指应用基因工程技术和生物化学合成技术生产的疫苗，包括基因工程亚单位疫苗、重组疫苗、基因工程载体疫苗和核酸疫苗等。

1. **死疫苗**（killed vaccine） 亦称**灭活疫苗**，是用物理、化学方法杀死病原微生物，但仍保持其免疫原性的一种生物制剂。常用的有伤寒、霍乱、流行性脑膜炎、钩端螺旋体病等灭活疫苗。

2. **活疫苗**（living vaccine） 亦称**减毒活疫苗**（attenuated vaccine），是通过毒力变异或人工选择法（如温度敏感株）而获得的减毒或无毒株，或从自然界直接选择出来的弱毒或无毒株经培养后制成的疫苗，如 BCG、鼠疫、炭疽等减毒活疫苗。

活疫苗和死疫苗各有优缺点，一般认为活疫苗优于死疫苗（表 7–1）。

表 7–1 活疫苗与死疫苗的比较

区别点	活疫苗	死疫苗
制品特点	减毒或无毒的疫苗	死菌，仍保持免疫原性
制备方法	通过非正常培养得到减毒株	通过物理或化学方法使病原体失活
接种次数和接种量	1 次，量小	2~3 次，量大
接种反应	可在体内增殖，类似轻型感染或隐性感染	在体内不增殖，可出现发热、全身或局部肿痛等反应
免疫应答的类型	体液免疫和细胞免疫	体液免疫
免疫维持时间	1~5 年或更长	0.5~1 年
毒力回升与安全性	有可能，对免疫缺陷者有危险	不可能，安全性好
疫苗的稳定性	相对不稳定	相对稳定
保存	不易保存，4℃存活 2 周，真空冻干可长期保存	易保存，4℃可保存 1 年以上

3. **亚单位疫苗**（subunit vaccine） 是去除病原体中与激发保护性免疫无关或有害的成分，但保留有效免疫原成分，能诱发机体产生免疫应答的疫苗，称为**亚单位疫苗**。如肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌和流感嗜血杆菌表面的荚膜多糖疫苗。

4. **基因工程疫苗**（gene engineered vaccine） 利用**基因工程技术**将编码病原体保护性抗原表位的**目的基因**导入**原核或真核表达系统**中表达、纯化后制成的疫苗，实际上也是一种亚单位疫苗，例如带有宋内志贺菌表面抗原质粒的伤寒沙门菌 Ty21a 重组疫苗等。基因工程疫苗的优点是安全、经济、可批量生产。但技术要求高，对表达的保护性抗原蛋白质的回收和纯化较困难。

5. **重组载体疫苗**（recombinant carrier vaccine） 是将编码某一蛋白抗原的基因转入减毒的病毒或细菌而制成的疫苗。转入的目的基因可整合到病毒或细菌的基因组上或以质粒的形式存在。重组载体疫苗在应用于人体后，会在体内增殖并将蛋白抗原的基因表达成相应的蛋白质，后者刺激人体发生免疫应答。所以重组载体疫苗也是活疫苗的一种特殊形式。在构建过程中，可将一种病原体的两个或多个蛋白抗原的编码基因或多个病原体的蛋白抗原编码基因，转入同一种病原体内以制成重组载体疫苗。

6. **核酸疫苗**（nucleic acid vaccine） 也称 **DNA 疫苗**。是将编码保护性抗原的基因重组到**质粒真核表达载体**上，经肌内注射或黏膜免疫等方法导入宿主体内，外源基因在体内所表达的抗原能刺激机体产生免疫应答。与其他疫苗相比，**核酸疫苗**仅用编码病原体抗原的基因片段，这种核酸本身既是载体又能在真核细胞中表达抗原，刺激机体产生特异而有效的体液免疫和细胞

笔 记

免疫应答，尤其能诱导产生具有细胞毒杀伤功能的T淋巴细胞，可有效地预防病毒、细胞内寄生菌感染所引起的传染病。对那些抗原结构不清楚或者预防效果不理想的传染病，例如结核病、艾滋病、疟疾等的预防可带来希望。目前，核酸疫苗已成为疫苗研究领域中的热点之一，有关核酸疫苗的免疫机制、在人体使用的安全性等诸多问题正在深入研究之中。

（二）类毒素

类毒素（toxoid）是外毒素经0.3%~0.4%甲醛处理后，失去了毒性但仍保持免疫原性的生物制品。加入吸附剂(佐剂)氢氧化铝后便制成精制类毒素。佐剂可延缓类毒素在体内的吸收时间，刺激机体产生足量的抗毒素。将类毒素与死疫苗制成的联合疫苗在临床应用取得了很好效果，如DPT三联疫苗，可同时预防白喉、百日咳、破伤风三种疾病。

二、人工被动免疫

人工被动免疫是输入含有特异性抗体的**免疫血清**、纯化**免疫球蛋白**抗体等免疫制剂，使机体立即获得特异性免疫力的过程，可用于某些急性传染病的**紧急预防和治疗**。但因这些免疫物质不是病人自身体内产生，故维持时间较短。

1. **抗毒素**（antitoxin）　将**类毒素**或**外毒素**给马进行多次免疫后，待马产生**高效价抗体**后采血，分离血清，提取其免疫球蛋白精制成**抗毒素**制剂。抗毒素主要用于外毒素所致疾病的治疗和紧急预防。临床常用的有精制破伤风、白喉和肉毒抗毒素以及多价精制气性坏疽抗毒素等。使用这些异种抗毒素时应注意避免Ⅰ型超敏反应的发生。

2. **血清丙种球蛋白**（serum gammaglobulin）　是从正常人血浆中提取的丙种球蛋白制剂。**胎盘丙种球蛋白**（placental gammaglobulin）是从健康产妇的胎盘或婴儿脐带血液中提制而成，主要含有丙种球蛋白。因为大多数成人患过多种疾病、经历过隐性感染及疫苗接种，故血清中含有抗多种微生物的特异性抗体。主要用于对某些疾病的紧急预防及烧伤患者预防细菌感染。也可用于丙种球蛋白缺乏症患者，以及经长期化疗或放疗的肿瘤患者。

人工主动免疫和人工被动免疫方法的比较见表7-2。

表7-2　两种人工免疫方法的比较

区别点	人工主动免疫	人工被动免疫
免疫物质	抗原	抗体或细胞因子等
接种次数	1~3次	1次
免疫出现时间	慢（注射后2~4周）	快（注射后立即出现）
免疫维持时间	长（数月~数年）	短（2~3周）
用途	多用于预防	多用于治疗或紧急预防

3. **抗菌血清**（antiserum）　由于抗生素等抗菌药物的广泛应用，细菌性感染基本能得到控制。因细菌的菌型多，且抗菌血清的制备技术较繁杂并可能会引起超敏反应等，故采用抗菌血清的治疗技术已基本被淘汰。对于由铜绿假单胞菌多重耐药菌株所引起的严重烧伤疾病感染的治疗，尚可以考虑试用。

第三节　细菌感染的治疗原则

主要采用抗菌药物来治疗细菌感染。抗菌药物一般是指具有杀菌或抑菌活性的药物以及由微生物合成的抗生素类药物。正确合理应用抗菌药物是提高疗效、降低不良反应发生率以及减少或减缓细菌耐药性发生的关键。抗菌药物治疗性应用的基本原则是：①诊断为细菌性感染者，方有指征应用抗菌药物；②尽早查明感染病原，根据病原种类及细菌药物敏感试验结果选用

笔记

抗菌药物;③按照药物的抗菌作用特点及其体内过程特点选择用药;④抗菌药物治疗方案应综合患者病情、病原菌种类及抗菌药物特点制订。有关抗菌药物的分类及其抗菌药物的主要作用机制等,请参见第六章内容。

(张力平)

笔记

第八章　球　　菌

球菌(coccus)是细菌中的一个大类,其中对人类有致病性的球菌**包括葡萄球菌属、链球菌属、肠球菌属和奈瑟菌属四个属的一些细菌**。根据革兰染色性的不同,球菌分成革兰阳性和革兰阴性两类。前者有葡萄球菌、链球菌、肺炎链球菌和肠球菌等;后者有脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌等。通常把那些引起机体化脓性炎症的球菌又称为**化脓性球菌**(pyogenic coccus)。

第一节　葡萄球菌属

葡萄球菌属(*Staphylococcus*)细菌广泛分布于自然界,例如空气、土壤、物品、人和动物体表及与外界相通的腔道中。本属细菌种类很多,大部分是不会致人疾病的腐物寄生菌及属于人体正常菌群的**表皮葡萄球菌**(*S.epidermidis*)。对人类致病的主要是**金黄色葡萄球菌**(*S.aureus*)。

一、金黄色葡萄球菌

(一) 生物学性状

1. 形态与染色　**革兰阳性**,球形,直径约1μm,呈**葡萄串状排列**(图8-1)。无芽胞、无鞭毛,体外培养时一般不形成荚膜,但少数菌株的细胞壁外层可见有荚膜样黏液物质。在某些化学物质(如青霉素)作用下,可裂解或变成L型。葡萄球菌在衰老、死亡、陈旧培养物中或被中性粒细胞吞噬后的菌体常转为革兰阴性。

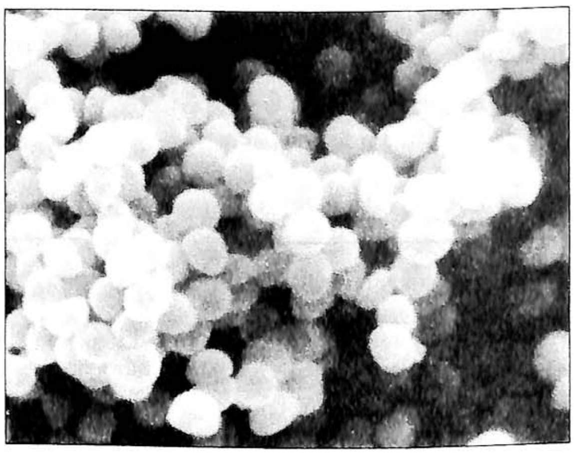


图8-1　葡萄球菌
(扫描电镜 ×13 500,谢念铭、王济中提供)

2. 培养特性　需氧或兼性厌氧。营养要求不高,在普通培养基中,37℃生长良好。在普通琼脂平板上孵育24~48小时后,形成圆形、隆起、表面光滑、湿润、边缘整齐、不透明的菌落,直径在2mm左右。属内不同菌种可产生金黄色、白色或柠檬色等不同颜色的**脂溶性色素**并使菌落着色。**致病性葡萄球菌菌落呈金黄色,于血琼脂平板上生长后,在菌落周围还可见完全透明溶血环(β溶血)**。

3. 生化反应　多数菌株能分解葡萄糖、麦芽糖和蔗糖,产酸不产气。致病性菌株能分解甘露醇,产酸。触酶(过氧化氢酶)阳性,可与链球菌相区分。

4. 抗原　种类多,结构复杂,已发现的抗原在30种以上,其化学组成有多糖抗原、蛋白质抗原和细胞壁成分抗原,其中以**葡萄球菌A蛋白**较为重要。

(1) **葡萄球菌A蛋白**(staphylococcal protein A,SPA):90%以上金黄色葡萄球菌细胞壁表面存在SPA蛋白质。SPA为完全抗原,能与人及多种哺乳动物的IgG1、IgG2和IgG4分子Fc段非特异性结合,结合后的IgG分子Fab段仍能与抗原特异结合。利用此原理建立的**协同凝集试验**(coagglutination assay)已广泛应用于多种微生物抗原检测。在体内,SPA与IgG结合后所形成的复合物还具有**抗吞噬**、促细胞分裂、引起超敏反应、损伤血小板等多种生物活性。

(2) 荚膜多糖:宿主体内的大多数金黄色葡萄球菌表面存在有荚膜多糖抗原,它有利于细菌

笔记

黏附到细胞或生物合成材料表面(如生物性瓣膜、导管、人工关节等)。

(3) 多糖抗原:具有群特异性,存在于细胞壁。从金黄色葡萄球菌中可分离出 A 群的多糖抗原,其化学组成为磷壁酸中的N-乙酰葡糖胺核糖醇残基。从表皮葡萄球菌可分离B群多糖抗原,其化学组成是磷壁酸中的 N-乙酰葡糖胺甘油残基。

5. 分类

(1) 根据色素、生化反应等表型分类:按照传统分类,葡萄球菌属包括 30 多个种。其中,**金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、腐生葡萄球菌**(*S. saprophyticus*)3 个种分别代表了致病性、正常菌群或机会致病性以及非致病性葡萄球菌(表 8-1)。

表 8-1 三种葡萄球菌的主要性状比较

性状	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	腐生葡萄球菌
菌落色素	金黄色	白色	白色或柠檬色
血浆凝固酶	+	–	–
分解葡萄糖	+	+	–
甘露醇发酵	+	–	–
α 溶血素	+	–	–
耐热核酸酶	+	–	–
A 蛋白	+	–	–
磷壁酸类型	核糖醇型	甘油型	两者兼有
噬菌体分型	多数能	不能	不能
致病性	强	弱	无
新生霉素	敏感	敏感	耐药

(2) 根据有无凝固酶分型:可分为**凝固酶阳性菌株**和**凝固酶阴性菌株**两大类。凝固酶阳性的葡萄球菌可被相应的噬菌体裂解,又分为 4 个噬菌体群和 23 个噬菌体型。葡萄球菌的噬菌体分型在流行病学调查、追查传染源和研究菌体分型与疾病类型间的关系均有重要作用。

(3) 根据核酸分析的遗传学分型:随着分子生物学技术的发展,出现了 DNA 和 RNA 分析的遗传学分型方法,其特异性比表型分类法高。如 DNA 脉冲电泳和 PCR 法分型等方法。目前,依据 16S rRNA 不同,把葡萄球菌属又分为 40 个种和 24 个亚种。

6. 抵抗力 **葡萄球菌对外界理化因素的抵抗力较强**。在干燥的脓汁或痰液中可存活 2~3 个月;加热 60℃ 1 小时或 80℃ 30 分钟才能将其杀死;耐盐,于 100~150g/L NaCl 培养基中仍能繁殖。对甲紫等某些染料较敏感,对青霉素、金霉素、红霉素和庆大霉素高度敏感,对链霉素中度敏感,对磺胺、氯霉素敏感性差。该菌易产生耐药性,近年来因抗生素的选择作用,耐药菌株逐年增多,对青霉素 G 的耐药菌株已达 90% 以上,尤其是**耐甲氧西林金黄色葡萄球菌**(methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA),已经成为医院感染最常见的致病菌。耐药性的产生机制与细菌的质粒或与细菌细胞壁成分改变和合成的量有关。

7. 基因组特征 金黄色葡萄球菌的全基因组序列和其 MRSA 耐药菌株序列的测定已经完成,基因组约 2.81Mb, 32.8%的 G+C 含量,有 2600 多个开放读码框架,有较多插入序列和转座子,基因组内有两个"毒力岛"。生物信息学比较分析能够快速确定特异的、可移动性的、编码耐药基因及毒素基因的片段,如噬菌体、毒力岛、转座子和插入序列等。细菌有许多新的编码超抗原的重复序列。这些特点可能决定金黄色葡萄球菌可以感染各类有不同主要组织相容性抗原复合物(MHC)基因背景的人群。此外,还发现金黄色葡萄球菌基因组编码的 sRNA 与其致病性有关。

笔记

（二）致病性

葡萄球菌中**金黄色葡萄球菌毒力最强**，通过在宿主体内的增殖、扩散和产生有害的胞外物质（酶和毒素）引起宿主疾病。

1. 致病物质 葡萄球菌的毒力因子包括：①细菌的一些**表面结构蛋白**，如黏附素、荚膜、胞壁肽聚糖和 SPA 等；②酶：**凝固酶**和其他酶（纤维蛋白溶酶、耐热核酸酶、透明质酸酶、脂酶等）；③毒素：**细胞溶素（α、β、γ、δ）、杀白细胞素、表皮剥脱毒素、毒性休克综合征毒素-1、肠毒素等**（表 8-2）。

表 8-2 金黄色葡萄球菌的毒力因子及生物活性

毒力因子	生物学活性
一、细胞表面结构	
荚膜 / 黏液层	抑制吞噬和单核细胞增殖，促进黏附
肽聚糖	抑制炎性应答，抑制吞噬，有毒素样活性
磷壁酸	与纤连蛋白结合，介导黏附
蛋白 A（SPA）	与 IgG 的 Fc 区反应，抑制吞噬，抗补体
二、毒素	
溶素（α、β、γ、δ）	溶解细胞膜，具细胞毒作用
表皮溶解毒素	引起皮肤剥脱性皮炎
杀白细胞素（PV）	破坏吞噬细胞，增强侵袭力
肠毒素	引起呕吐、腹泻、超抗原作用
毒素休克综合征毒素	引起多器官、多系统的功能紊乱，超抗原作用
三、酶类	
凝固酶	使血浆纤维蛋白原转为纤维蛋白，使血浆凝固
透明质酸酶（扩散因子）	降解结缔组织的透明质酸
葡激酶（纤维蛋白溶酶）	水解纤维素
脂酶	分解脂肪
DNA 酶	水解 DNA
触酶	分解 H_2O_2

（1）**凝固酶**（coagulase）：多数致病菌株能产生凝固酶，该酶使**加有抗凝剂的人或兔血浆凝固**，可作为**鉴定致病性葡萄球菌的重要指标**。

凝固酶有两种：①游离凝固酶（free coagulase）：是分泌至细菌体外的蛋白质，可被人或兔血浆中的协同因子（cofactor）激活，成为**凝血酶样物质**，从而使**液态的纤维蛋白原变成固态的纤维蛋白**，导致血浆凝固。②结合凝固酶（bound coagulase）或凝聚因子（clumping factor）：可结合菌体表面并不释放，是该菌株表面的**纤维蛋白原受体**。

凝固酶和葡萄球菌的致病力关系密切。凝固酶阳性菌株进入机体后，使周围血液或血浆中的纤维蛋白等沉积于细菌表面，**阻碍吞噬细胞的吞噬或胞内消化作用；还能保护病菌不受血清中杀菌物质的破坏**。葡萄球菌繁殖引起的周围纤维蛋白沉积和凝固**使感染易于局限化和形成血栓**。凝固酶具有免疫原性，能刺激机体产生抗体，具有一定的保护作用。近年来发现凝固酶阴性的葡萄球菌亦能引起某些感染，受到重视。

其他酶类：①纤维蛋白溶酶（fibrinolysin）又称葡激酶（staphylokinase）。可激活血浆中的纤维蛋白酶原，使之成为纤维蛋白酶，导致血浆纤维蛋白的溶解，利于病菌的扩散；②**耐热核酸酶**（heat-stable nuclease）由致病性葡萄球菌产生，耐热，能较强的降解 DNA 和 RNA。目前临床上已

笔记

将耐热核酸酶作为**测定葡萄球菌有无致病性的重要指标之一**;③透明质酸酶(hyaluronidase)亦称扩散因子(spreading factor),能溶解细胞间质中的透明质酸,利于细菌的扩散。90% 以上的金黄色葡萄球菌能产生该酶;④脂酶(lipase)能分解血浆和机体各部位表面的脂肪和油类,对细菌入侵皮肤和皮下组织非常重要。

(2) **葡萄球菌溶素**(staphylolysin):致病性葡萄球菌能产生多种抗原性不同的溶素,分为 α、β、γ、δ 等,对人类有致病作用的主要是 α 溶素。α 溶素生物学活性广泛,对多种哺乳动物红细胞有溶血作用,对白细胞、血小板、肝细胞、皮肤细胞等有损伤破坏作用。α 溶素为外毒素,抗原性好。其作用机制可能是毒素分子插入细胞膜疏水区,破坏膜的完整性导致细胞溶解。

(3) 杀白细胞素(leukocidin):又称 Panton-Valentine(PV)杀白细胞素(PVL)。此毒素分为快(F)和慢(S)两种组分,两者必须协同才有作用,都能与细胞膜受体结合,使细胞膜发生构型变化,膜通透性增高,细胞浆内的颗粒排出,细胞死亡。杀白细胞素只攻击中性粒白细胞和巨噬细胞,白细胞的死亡成分可以形成脓栓,加重组织损伤。

(4) 肠毒素(enterotoxin):约 50% 临床分离的金黄色葡萄球菌可产生**肠毒素**,已确定的有 9 个血清型。肠毒素是一组**热稳定**的可溶性蛋白质,可抵抗胃肠液中蛋白酶的水解作用。产毒菌株可污染牛奶、肉类等食物,经 10 小时便产生大量肠毒素。肠毒素作用机制可能是毒素与肠道神经细胞受体作用,刺激呕吐中枢导致以**呕吐为主要症状的急性胃肠炎,称为食物中毒**。葡萄球菌肠毒素可用于生物战剂,其气雾剂吸入后造成多器官损伤,严重者可导致休克或死亡。

葡萄球菌肠毒素属于超抗原(superantigen),有类似丝裂原的作用,其刺激淋巴细胞增殖的能力比植物凝集素更强。肠毒素超抗原不经过抗原提呈细胞的处理,能非特异性激活 T 细胞增殖并释放过量细胞因子致病。金黄色葡萄球菌产生的肠毒素 A、B、C、D、E、G 以及毒性休克综合征毒素 -1 都具有超抗原活性,并参与免疫抑制和自身免疫性疾病的病理过程。

(5) **表皮剥脱毒素**(exfoliative toxin,exfoliatin):又称表皮溶解毒素(epidermolytic toxin),为金黄色葡萄球菌质粒编码产生的一种蛋白质,有两个血清型:A 型耐热;B 型不耐热。在新生儿、幼儿和免疫功能低下的成人中,表皮剥脱毒素可引起**烫伤样皮肤综合征**(staphylococcal scalded skin syndrome,SSSS),又称**剥脱性皮炎**。患者皮肤呈弥漫性红斑和水疱,继以表皮上层大片脱落,受损部位的炎症反应轻微。

(6) **毒性休克综合征毒素**-1(toxic shock syndrome toxin-1,TSST-1):引起**毒性休克综合征**(TSS)。TSST-1 是金黄色葡萄球菌分泌的一种外毒素,可引起机体发热、休克及脱屑性皮疹。TSST-1 能增加机体对内毒素的敏感性,感染产毒菌株后,可引起机体多个器官系统的功能紊乱或毒性休克综合征。

2. **所致疾病** 葡萄球菌所致人类疾病有**侵袭性**和**毒素性**两种类型。

(1) 侵袭性疾病(化脓性感染):以脓肿形成为主的各种化脓性炎症,一般发生在皮肤组织,也可发生于深部组织器官,甚至波及全身。①皮肤化脓性感染:如毛囊炎、疖、痈、伤口化脓及脓肿等。亦可侵入呼吸道或血流引起感染。常见临床表现:**脓汁金黄而黏稠、病灶界限清楚、多为局限性**。②各种器官的化脓性感染:如气管炎、肺炎、脓胸、中耳炎、骨髓炎等。③全身感染:若皮肤原发化脓灶受到外力挤压或机体抵抗力下降,则会引起**败血症**、**脓毒血症**等。

(2) 毒素性疾病:由外毒素引起的中毒性疾病。①食物中毒:摄入产生肠毒素的金黄色葡萄球菌污染的食物后,经 1~6 小时的潜伏期,可出现恶心、呕吐、腹泻等急性胃肠炎症状,即食物中毒。不伴有发热,一般 1~2 天内迅速恢复,少数严重者可发生虚脱或休克。**该菌引起的食物中毒是夏秋季节常见的胃肠道疾病**。②烫伤样皮肤综合征:**多见于婴幼儿和免疫力低下的成人**。开始皮肤出现红斑,1~2 天表皮起皱,继而出现内含无菌、清亮液体的大疱,轻微触碰可破溃,最后表皮脱落。若得不到及时治疗,病死率可达 20%。③毒性休克综合征(TSS):病人表现为突然高热、呕吐、腹泻、弥漫性红疹,继而有脱皮(尤以掌及足底明显)、低血压、黏膜病变(口咽、阴道

笔记

等),严重的病人还出现心、肾衰竭,甚至可发生休克。

现认为抗生素等原因导致的菌群失调症所引起的假膜性肠炎主要由艰难梭菌所致,金黄色葡萄球菌仅为伴随菌。

(三) 免疫性

人类对葡萄球菌有一定的天然免疫力。只有当皮肤黏膜受伤后,或患有慢性消耗性疾病如结核、糖尿病、肿瘤等以及其他病原体感染导致宿主免疫力降低时,才易引起葡萄球菌感染。患病恢复后,虽能获得一定的免疫力,但不强,**难以防止再次感染**。

(四) 微生物学检查法

局部化脓性感染的微生物学检查意义不大,但在确定全身性感染病因或选择有效治疗药物上有一定价值。

1. **标本直接涂片镜检** 依据病情可采取脓汁、血液、脑脊液、尿液和骨髓穿刺液等。食物中毒取剩余食物、患者呕吐物、粪便等不同标本。取标本涂片,革兰染色后镜检。一般**根据细菌形态、排列和染色特性可做出初步诊断**。

2. **分离培养和鉴定** 将标本接种至血琼脂平板,37℃孵育 18~24 小时后挑选可疑菌落行涂片染色镜检。血液标本需经肉汤培养基增菌后,再接种到血琼脂平板。

致病性葡萄球菌的鉴定主要根据:①能产生金黄色色素;②有溶血性;③凝固酶试验阳性;④耐热核酸酶试验阳性;⑤能分解甘露醇产酸。由于凝固酶阴性菌株有时亦能致病,在最后判定时应结合临床病症。毒素鉴定多采用 ELISA 法。进一步的型别鉴定可以采用细菌核糖体基因分型法(ribotyping)、质粒指纹图谱法、荧光原位杂交和基因扩增等分型法。

3. **药敏实验** 金黄色葡萄球菌易产生耐药性变异,约 90% 的菌株产生 β-内酰胺酶,成为青霉素的耐药菌株。对临床分离的菌株,必须做药物敏感试验,找到敏感药物。

4. **葡萄球菌肠毒素检查** 取食物中毒患者的呕吐物、粪便或剩余食物作细菌分离培养和鉴定。ELISA 法可检测微量肠毒素,快速敏感。也可用特异的核酸杂交和 PCR 技术检测葡萄球菌是否为产肠毒素的菌株。

(五) 防治原则

注意个人卫生、消毒隔离和防止医源性感染。要做到:①及时使用消毒药物处理皮肤创伤;②皮肤有化脓性感染者,未治愈前不宜从事食品制作或饮食服务行业;③正常人鼻咽部**带菌率**为 20%~50%,**医务人员可高达 70%,是医院内交叉感染的重要传染源**;④**治疗应根据药物敏感试验结果**,防止耐药性菌株扩散;⑤反复发作的顽固性疖疮,宜采用**自身菌苗**或类毒素进行人工自动免疫,有一定疗效。

二、凝固酶阴性葡萄球菌

过去认为**凝固酶阴性的葡萄球菌**(coagulase negative staphylococcus,CNS)对人并不致病,但近年来临床和实验室检测结果证实 CNS **已经成为医源性感染的常见重要病原菌,其耐药菌株日渐增多,造成诊治困难**,引起临床微生物学工作者关注。

(一) 生物学性状

CNS 为革兰阳性菌,不产生血浆凝固酶、α 溶血素等毒性物质。**最常见的 CNS 是表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌**,其主要生物学性状见表 8-1。CNS 除表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌外,还包括**溶血葡萄球菌**(*S. heamolyticus*)、人葡萄球菌(*S. huminis*)、头葡萄球菌(*S. capitis*)等 30 多种。此外,某些凝固酶阳性的葡萄球菌在人体免疫功能或在抗生素的作用下,可以转变成为 CNS 或凝固酶弱阳性的葡萄球菌,但在体外放置数天后,又可回复成为凝固酶阳性葡萄球菌。

(二) 致病性

CNS 是人体皮肤和黏膜的**正常菌群**,检出率约 90%。**当机体免疫功能低下或进入非正常寄**

笔记

居部位时，CNS 可引起多种感染，在各类感染中仅次于大肠埃希菌，居病原菌的第二位。CNS 致病机制主要是：①**细菌胞壁外黏质**（extracellular slime substance，ESS），ESS 化学成分为多糖，是一层黏液物质。ESS 在细菌黏附和抵抗宿主的免疫防御作用中有重要的致病作用。体外实验表明 ESS 可抑制机体免疫应答，阻碍抗生素向病灶渗透，阻止粒细胞的趋化和吞噬作用。②**溶血素**（β 溶血素、δ 溶血素），如溶血葡萄球菌的溶血性与其致病性有关。③腐生葡萄球菌能**选择性的吸附**在尿道上皮细胞，易于定植及引起感染。CNS 引起感染有以下几种：

1. 泌尿系统感染 为年轻妇女急性膀胱炎的主要致病菌，尿道感染仅次于大肠埃希菌。常见的是表皮葡萄球菌、人葡萄球菌和溶血葡萄球菌。

2. 细菌性心内膜炎 主要为心瓣膜修复术感染表皮葡萄球菌（特别是安装人工瓣膜者）。

3. 败血症 凝固酶阴性葡萄球菌引起的败血症仅次于大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌，常见的是溶血葡萄球菌和人葡萄球菌。

4. 术后及植入医用器械引起的感染 创伤及外科手术后，植入医用器械如心脏起搏器安装、置换人工心瓣膜、长期腹膜透析、导管感染、人工关节感染、静脉滴注及脑脊液分流术等亦可造成凝固酶阴性葡萄球菌的感染。目前医院内耐甲氧西林的表皮葡萄球菌感染已成为瓣膜修复术或胸外科手术中的严重问题。

（三）微生物检查法及防治原则

CNS 感染的诊断可依据凝固酶阴性、不能分解甘露醇及色素检查，把 CNS 和金黄色葡萄球菌感染相区别，有时尚需要把生化试验、质粒图谱、耐药谱结合起来加以鉴定。防治原则主要是选择对凝固酶阴性的葡萄球菌敏感的消毒剂，对术前、术后、医务人员及空气、环境的消毒、控制医院感染。治疗时因其易产生耐药性，应依据药敏实验选择敏感抗生素（如诺氟沙星和万古霉素等）。

第二节 链 球 菌 属

链球菌属（*Streptococcus*）细菌是化脓性球菌中的另一大类常见的革兰阳性球菌，排列呈双或长短不一的**链状**。目前有 69 个种和亚种，广泛分布于自然界、人及动物粪便和健康人的鼻咽部，大多数为正常菌群，并不致病。病原性链球菌主要引起人类的各种化脓性炎症，还可引起人类肺炎、猩红热等重要疾病。**链球菌属中对人类致病的主要是 A 群链球菌和肺炎链球菌**。

链球菌的分类常用下列三种原则：

1. 溶血现象分类 链球菌在血琼脂平板培养基上生长繁殖后，按产生溶血与否及其溶血现象分为 3 类。

（1）**甲型溶血性链球菌**（α-hemolytic streptococcus）：**菌落周围有 1~2mm 宽的草绿色溶血环，称甲型溶血或 α 溶血**，因而这类细菌被称为**草绿色链球菌**（viridans streptococcus）。α-溶血环中的红细胞并未完全溶解，**这类链球菌多为机会致病菌**。

（2）**乙型溶血性链球菌**（β-hemolytic streptococcus）：**菌落周围形成一个 2~4mm 宽、界限分明、完全透明的无色溶血环，称乙型溶血或 β 溶血**，β 溶血环中的红细胞完全溶解，因而这类链球菌亦称为**溶血性链球菌**（streptococcus hemolytic）。**溶血性链球菌致病力强，常引起人类和动物的多种疾病**。

（3）**丙型链球菌**（γ-streptococcus）：**不产生溶血素，菌落周围无溶血环**，因而亦称不溶血性链球菌（streptococcus non-hemolytic）。一般不致病，常存在于乳类和粪便中。

2. 抗原结构分类 根据链球菌细胞壁中抗原结构（**C 多糖抗原**）的不同，运用血清学方法可分成 A~H、K~V 20 群。**对人致病的链球菌菌株，90% 左右属 A 群**，其他群少见（表 8-3）。同一群的链球菌又可分若干型。例如 A 群根据其 M 抗原不同，可分成 150 个型；B 群分 4 个型；C

笔记

群分 13 个型等。链球菌的群别与其溶血性之间无平行关系，但**对人类致病的 A 群链球菌多数呈现乙型溶血**。

表 8-3 医学常见链球菌

链球菌	血清群	溶血	诊断要点	引起常见疾病
化脓性链球菌	A 群	β 溶血	杆菌肽敏感	皮肤感染，咽炎，风湿热，肾炎
无乳链球菌	B 群	β 溶血	杆菌肽不敏感，水解马尿酸盐	新生儿败血症和脑膜炎
牛链球菌	D 群	不溶血	不耐 6.5% NaCl	败血症，心内膜炎
肺炎链球菌	—	α 溶血	胆盐敏感	肺炎，脑膜炎，心内膜炎
草绿色链球菌	—	α 或不溶血	胆盐不敏感	龋齿，心内膜炎

3. 生化反应分类 对一些不具有群特异性的链球菌（如肺炎链球菌和草绿色链球菌等），需用生化反应、药物敏感性实验和对氧的需要进行分类。如按对氧的需要分为需氧、兼性厌氧和厌氧性链球菌三类，前两类对人有致病性，厌氧性链球菌主要为口、消化道、泌尿生殖道中的正常菌群，在特定条件下致病。

一、A 群链球菌

A 群链球菌(group A streptococcus)中与人类疾病密切相关的主要为**化脓性链球菌**(*Streptococcus pyogenes*)，**是人类常见的感染细菌，也是链球菌中对人致病作用最强的细菌**。

（一）生物学性状

1. 形态与染色 球形或椭圆形，直径 0.6~1.0μm。**呈链状排列**，长短不一（图 8-2）。在液体培养基中形成长链，固体培养基上则为短链。无芽胞，无鞭毛。在培养早期(2~4 小时)形成透明质酸的荚膜，随着培养时间的延长，细菌自身可产生透明质酸酶，使得荚膜消失。

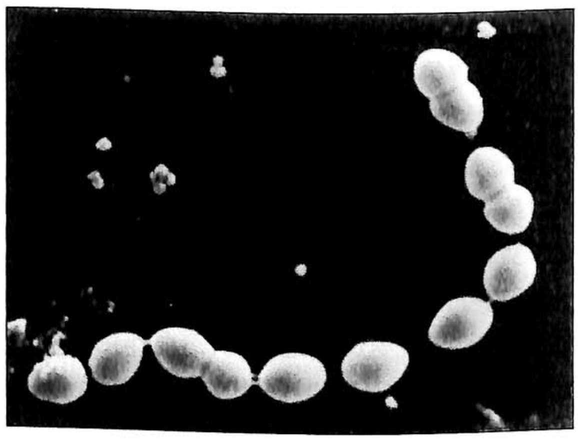


图 8-2 链球菌
（扫描电镜 ×12 000，谢念铭、王济中提供）

2. 培养特性 多数菌株兼性厌氧。**营养要求较高**，在含血液、血清、葡萄糖培养基上生长良好。在血清肉汤中易形成长链，管底呈絮状沉淀。在血琼脂平板上，形成灰白色、表面光滑、边缘整齐、直径 0.5~0.75mm 的细小菌落，**多数菌株菌落周围形成较宽的透明溶血环（β 溶血现象）**。

3. 生化反应 分解葡萄糖，产酸不产气。链球菌一般**不分解菊糖，不被胆汁溶解**，可用这两个特性来鉴别甲型溶血性链球菌和肺炎链球菌。链球菌与葡萄球菌不同，不产生触酶。

4. 抗原结构 链球菌的抗原结构较复杂（图 8-3），主要有 3 种：

(1) 多糖抗原或称 C 抗原：细胞壁的多糖组分，可用稀盐酸等提取。为群特异性抗原，是链球菌分群的依据。

(2) 表面抗原或称蛋白质抗原：细胞壁外的菌毛样结构含 **M 蛋白**，位于 C 抗原外层，具有型特异性，有近 150 种血清型。M 抗原与致病性有关。

(3) P 抗原或称核蛋白抗原：无特异性，各种链球菌均相同，并与葡萄球菌有交叉。

(4) 抵抗力：一般链球菌均可在 60℃被杀死，对常用消毒剂敏感。在干燥尘埃中生存数月。乙型链球菌对青霉素、红霉素，四环素、杆菌肽和磺胺类药物都很敏感。

笔记

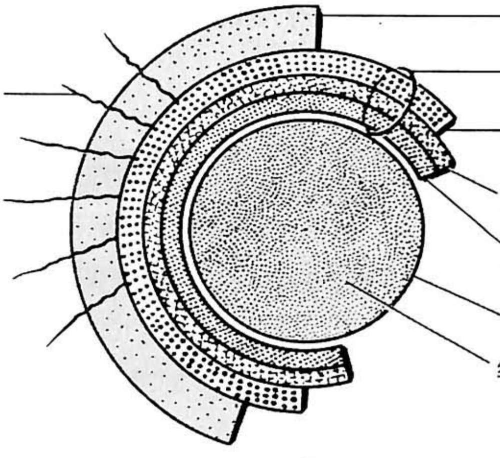


图 8-3 链球菌抗原结构模式图

（二）致病性

1. **致病物质** A 群链球菌有较强的侵袭力，除胞壁成分外，产生多种外毒素和胞外酶。

(1) 胞壁成分

1) 黏附素：细菌胞壁成分是 A 群链球菌重要的**黏附素**，包括**脂磷壁酸**（lipoteichoic acid，LTA）和 **F 蛋白**（protein F），它们与细胞膜有高度亲和力，是该菌能定植在机体皮肤和呼吸道黏膜等表面的主要侵袭因素。**脂磷壁酸围绕在 M 蛋白外层，与 M 蛋白共同组成 A 群链球菌的菌毛结构**。人类多种细胞膜上均有受体，LTA 与细胞表面受体结合，增强细菌对细胞的黏附性。F 蛋白位于化脓性链球菌细胞壁内，其结合区暴露在菌体表面，是**纤维粘连蛋白**（fibronectin，FBP）的受体，使得链球菌黏附到上皮细胞表面，以利于细菌在宿主体内定植和繁殖。

2) **M 蛋白**（M protein）：是 A 群链球菌的主要致病因子，含 M 蛋白的链球菌**具有抗吞噬和抵抗吞噬细胞内杀菌作用的能力**。此外，M 蛋白与心肌、肾小球基底膜有共同的抗原，可刺激机体产生特异性抗体，损害人类心血管等组织，故**与某些超敏反应性疾病有关**。

3) **肽聚糖**：A 群链球菌的肽聚糖具有致热、溶解血小板、提高血管通透性和诱发实验性关节炎等作用。

(2) 外毒素类

1) **致热外毒素**（pyrogenic exotoxin）：又称**红疹毒素**或**猩红热毒素**，是人类**猩红热**的主要毒性物质。**由携带溶原性噬菌体的 A 群链球菌产生**。化学组成为蛋白质，有 A、B、C 3 个血清型。致热外毒素抗原性强，**具有超抗原作用**，对兔有致热性和致死性。

2) **链球菌溶素**（streptolysin）：有溶解红细胞、破坏白细胞和血小板的作用。根据对 O_2 的稳定性，A 族链球菌可产生两种溶血素（hemolysin）。**链球菌溶素** O（streptolysin O，SLO）为含有 -SH 基的蛋白质，**对 O_2 敏感**，遇 O_2 时，-SH 基被氧化为 -S-S- 基，失去溶血活性。若加入亚硫酸钠或半胱氨酸等还原剂，溶血作用可以逆转。SLO 对哺乳动物中性粒细胞、血小板、巨噬细胞、神经细胞等有毒性作用，对心肌也有急性毒性作用。**SLO 抗原性强**，可刺激机体产生抗体。85%~90% 链球菌感染的患者，于感染后 2~3 周至病愈后数月到 1 年内可检出 SLO 抗体。**活动性风湿热病人**中的血清 SLO 抗体显著增高，其效价在 1:400 以上，可作为链球菌新近感染指标之一或风湿热及其活动性的辅助诊断。**链球菌溶素** S（streptolysin S，SLS）是小分子的糖肽、**无免疫原性，对氧稳定**。SLS 产生需要血清，链球菌在血琼脂平板上菌落周围的 β 溶血环是由 SLS 所致。对热和酸敏感，不易保存。SLS 对白细胞和多种组织细胞有破坏作用。

(3) **侵袭性酶**（invasive enzyme）类：A 群链球菌可产生多种侵袭酶，均是**扩散因子**（spreading factor），与致病性相关的有以下几种：

1) **透明质酸酶**（hyaluronidase）：能分解细胞间质的透明质酸，使病菌易在组织中扩散。

2) **链激酶**（streptokinase，SK）：亦称链球菌**溶纤维蛋白酶**（streptococcal fibrinolysase），与葡激酶类似，能使血液中**纤维蛋白酶原**变成**纤维蛋白酶**，可溶解血块或阻止血浆凝固，有利于病菌在组织中扩散。

3) **链道酶**（streptodornase，SD）：亦称链球菌 **DNA 酶**（streptococcal deoxyribonuclease），主要由 A、C、G 群链球菌产生。能降解脓液中具有高度黏稠性的 DNA，使脓液稀薄，促进病菌扩散。由于 SD 和 SK 能致敏 T 细胞，故常进行皮肤试验，通过迟发型超敏反应原理测定受试者的细胞免

笔记

疫功能，这项试验称为 SK–SD 皮试。此外，现已将 SK、SD 制成酶制剂，临床上用于液化脓性渗出液。

2. 所致疾病 A 群链球菌引起的疾病约占人类链球菌感染的 90%，其感染源为病人和带菌者。传播方式有空气飞沫传播、经皮肤伤口感染传播等途径。链球菌引起人类多种疾患，大致分为三种类型：

（1）**化脓性感染**：①皮肤和皮下组织感染：有淋巴管炎、淋巴结炎、蜂窝织炎、痈、脓疱疮等。②其他系统感染：有扁桃体炎、咽炎、咽峡炎、鼻窦炎、产褥感染、中耳炎、乳突炎等。

（2）**中毒性疾病**：猩红热、链球菌毒素休克综合征。

（3）**超敏反应性疾病**：风湿热和急性肾小球肾炎等。

（三）免疫性

A 群链球菌感染后，血清中出现多种抗体，机体可获得对同型链球菌的特异性免疫力。链球菌的型别多，各型之间无交叉免疫力，故常可反复感染。不同型 M 蛋白均可诱生γ–干扰素，以增强吞噬功能。患过猩红热后可产生同型的致热外毒素抗体，能建立牢固的同型抗毒素免疫。

（四）微生物学检查法

1. 标本 根据不同疾病采取相应标本。例如创伤感染的脓汁，咽喉、鼻腔等病灶的棉拭，败血症的血液等。风湿热患者可取血作抗链球菌溶素 O 的抗体测定。

2. 直接涂片镜检 脓汁可直接涂片进行革兰染色，镜检发现有典型的链状排列球菌时，可做出初步诊断。

3. 分离培养与鉴定 脓汁或棉拭直接接种在血琼脂平板，37℃孵育 24 小时后，如有 β 溶血菌落，应与葡萄球菌区别；若有 α 溶血菌落，要和肺炎链球菌鉴别。血液标本应先增菌后，再接种血琼脂平板。在心内膜炎病例，因甲型溶血性链球菌生长缓慢，孵育时间至少延长至 3 周才能判定结果。

4. PYR 试验 L– 吡咯酮 β 萘胺反应试验（PYR），用于特异性检测 A 群链球菌氨基肽酶，反应产物和试剂产生的产物显色或呈现荧光而快速诊断，其他溶血性链球菌则为阴性。

5. 血清学试验 **抗链球菌溶素 O 试验**（antistreptolysin O test，ASO test），简称**抗 O 试验，常用于风湿热的辅助诊断**。风湿热患者血清中抗 O 抗体比正常人显著增高，大多在 250 单位左右；活动性风湿热患者一般超过 400 单位。

（五）防治原则

链球菌感染主要通过飞沫传播，应对病人和带菌者及时治疗，以减少传染源。此外，还应注意对空气、器械和敷料等消毒。对急性咽喉炎和扁桃体炎患者，尤其是儿童，须治疗彻底，以防止急性肾小球肾炎、风湿热以及亚急性细菌性心内膜炎的发生。

治疗 A 群链球菌感染时，青霉素 G 为首选药物。预防感冒，避免链球菌感染，对减少风湿热和肾小球肾炎等变态反应性疾病的发生有较好效果。

二、肺炎链球菌

肺炎链球菌（*S. pneumoniae*），俗称肺炎球菌（pneumococcus）。常寄居于正常人的鼻咽腔中，多数不致病或致病力弱，仅少数有致病力，**是细菌性大叶肺炎、脑膜炎、支气管炎的主要病原菌**。

（一）生物学性状

1. 形态与染色 **革兰阳性**球菌，菌体呈矛头状，**多成双排列**，宽端相对，尖端向外，菌体周围显示有透明环（图 8–4）。在痰液、脓汁、肺组织病变中亦可呈单个或短链状。无鞭毛，无芽胞。在机体内或含血清的培养基中能形成荚膜，荚膜需特殊染色才可见。

2. 培养特性 营养要求较高，在含有血液或血清的培养基中才能生长。兼性厌氧。在血平板上的菌落细小、形成草绿色 α 溶血环。肺炎链球菌产生足量的自溶酶，自溶酶能破坏细胞壁，

笔记

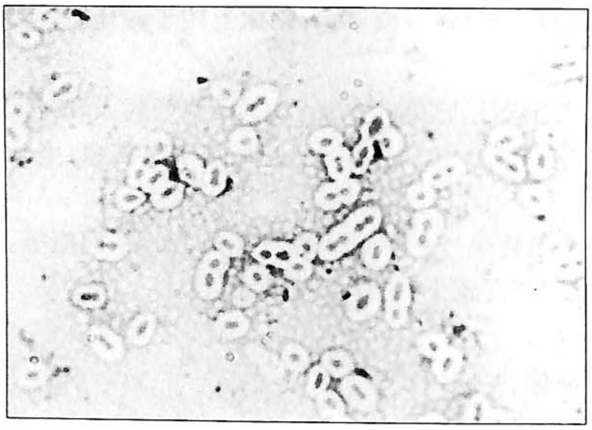


图 8-4 肺炎链球菌
（荚膜染色 ×1500）

使菌溶解。平板培养菌落中的菌体溶解，菌落中央下陷呈肚脐状。在血清肉汤中孵育，初期呈混浊生长，稍久自溶酶使细菌自溶，培养液渐变澄清。自溶酶可被胆汁或胆盐等活性物质激活，从而促进培养物中菌体的溶解。

3. 生化反应 肺炎链球菌分解葡萄糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖，产酸不产气。**可靠的鉴别法是胆汁溶菌试验。**

4. 抗原结构与分型

(1) 荚膜多糖抗原：存在于肺炎链球菌荚膜中。根据抗原不同，肺炎链球菌可区分为90多个血清型。其中有20多个型可引起疾病。

(2) 菌体抗原：① C 多糖：存在于肺炎链球菌的细胞壁中，一种具有种特异性的多糖，为各型菌株所共有。宿主血清中一种被称为 C **反应蛋白**（C reactive protein，CRP）的 β 球蛋白可沉淀肺炎链球菌的 C 多糖。CRP 虽不是抗体，但在急性炎症时含量剧增，用 C 多糖来测定 CRP，对活动性风湿热等诊断有一定意义；② M 蛋白：具有型特异性，肺炎链球菌 M 蛋白与细菌的毒力无关，产生的抗体无保护作用。

5. 抵抗力 对理化因素抵抗力较弱，对一般消毒剂敏感，在 30g/L 苯酚溶液或 1g/L 升汞溶液中 1~2 分钟即死亡，对肥皂也很敏感。荚膜株抗干燥力较强，在干痰中可存活 1~2 个月。

（二）致病性

1. 致病物质

(1) **荚膜**：有荚膜的肺炎链球菌抵抗力强，可在干痰中存活 2 个月。荚膜有抗吞噬作用，是肺炎链球菌的主要毒力因子。当有荚膜的光滑（S）型细菌失去荚膜成为粗糙（R）型时，其毒力减低或消失。

(2) **肺炎链球菌溶素** O（pneumolysin O）：能与细胞膜上的胆固醇结合，导致膜上出现小孔，可溶解羊、兔、马和人的红细胞。此外，还能活化补体经典途径，引起发热、炎症及组织损伤等作用。

(3) **脂磷壁酸**：存在细胞壁表面，分子量为 37kDa。在肺炎链球菌黏附到肺上皮细胞或血管内皮细胞的表面时起重要作用。

(4) **神经氨酸酶**：新分离的菌株中含有该酶，能分解细胞膜和糖脂的 N- 乙酰神经氨酸，与肺炎链球菌在鼻咽部和支气管黏膜上的定植、繁殖和扩散有关。

2. 所致疾病 肺炎链球菌仅在感染、营养不良和抵抗力下降等因素致呼吸道异常或受损伤时才引起感染，**肺炎链球菌主要引起人类大叶性肺炎，其次为支气管炎。**成人肺炎多数由 1、2、3 型肺炎链球菌引起，3 型肺炎链球菌能产生大量荚膜物质，毒力强，病死率高。儿童的大叶性肺炎以第 14 型最常见。肺炎后可继发胸膜炎、脓胸，也可引起中耳炎、乳突炎、鼻窦炎、脑膜炎和败血症等。

（三）免疫性

肺炎链球菌感染后，可建立较牢固的型特异性免疫。其免疫机制主要是产生荚膜多糖型特异抗体，在发病后 5~6 天就可形成抗体，抗体起调理作用，增强吞噬功能。

（四）微生物学检查法

根据病变部位，采取痰液、脓汁、血液或脑脊液等。可直接涂片镜检，若发现典型的**革兰阳性、具有荚膜的双球菌存在，即可作初步诊断。**血液或脑脊液须先经血清肉汤增菌后，再在血平板上分离培养。**血琼脂平板上，肺炎链球菌菌落周围有 α 草绿色溶血环。肺炎链球菌主要应与甲型溶血性链球菌鉴别**，常用方法：

笔记

1. 胆汁溶菌试验 利用胆汁可激活肺炎链球菌的自溶酶加速菌体自溶的原理。菌液内加入胆汁或 100g/L 去氧胆酸钠，37℃ 10 分钟细菌溶解溶液变清为阳性。

2. Optochin 敏感试验 将待试细菌涂布于血琼脂平板表面，再取直径 6mm 无菌滤纸圆片在 1∶2000 的 Optochin 溶液中浸湿，置于平板涂菌处；37℃ 48 小时后，观察抑菌圈的大小。肺炎链球菌的抑菌圈直径常在 20mm 以上，甲型溶血性链球菌（约 98%）小于 12mm。

3. 荚膜肿胀试验（quellung reaction） 肺炎链球菌和抗荚膜抗体反应后，显微镜下可见荚膜明显肿胀，可用于快速诊断。

4. 动物毒力试验 小鼠对肺炎链球菌高度易感。少量具有毒力的肺炎链球菌注入小鼠腹腔内，小鼠 24 小时内死亡。取心血或腹腔液培养可得肺炎链球菌纯培养。甲型溶血性链球菌感染的小鼠一般不死亡。

上述试验肺炎链球菌均为阳性，而甲型溶血性链球菌则为阴性。

（五）防治原则

多价肺炎链球菌荚膜多糖疫苗可用于预防儿童、老人和慢性病患者等肺炎链球菌性肺炎、败血症、脑膜炎等，有较好效果。美国已有 23 价荚膜多糖疫苗，在儿童和成人中使用。肺炎链球菌感染可用青霉素 G 治疗，并在治疗前作常规药物敏感试验。耐药者可选用万古霉素等敏感药物。

三、其他医学相关链球菌

（一）B 群链球菌

B 群链球菌（group B streptococcus，GBS）学名为**无乳链球菌**（*S. agalactiae*），能引起牛乳房炎，严重危害畜牧业。现发现**该菌也能感染人类，尤其是新生儿**，可引起**败血症**、**脑膜炎**、**肺炎**等，死亡率极高，并可产生神经系统后遗症，被医学界重视。

GBS 正常寄居于下呼吸道、泌尿生殖道和直肠，带菌率达 30% 左右。健康人的鼻咽部也可分离到 GBS。**新生儿感染同母体带菌有密切关系，分娩时胎儿可经带菌产道受染；也可由医护人员呼吸道所带病菌传播引起。**

新生儿 GBS 感染有两种类型：①早期发病的**暴发性败血症**。常见于 **1 周内的婴儿**，具有败血症的一般表现，伴呼吸窘迫。约 1/3 病儿有脑膜炎，亦称新生儿呼吸窘迫症或新生儿休克综合征。病情凶险，1~2 天死亡，死亡率高达 50%~70%。此类感染主要来自带菌的产妇，GBS 血清型可为Ⅰ、Ⅱ或Ⅲ型。②晚期发病的**化脓性脑膜炎**。发病年龄 1 周 ~3 个月，平均 4 周。呼吸道症状不多见，多伴有败血症。病死率约 15%，但存活者可发生痴呆、脑积水等后遗症。**此类感染一般系医院感染**，细菌血清型主要是Ⅲ型。

（二）D 群链球菌

D 群链球菌主要有牛链球菌（*S. bovis*）和马肠链球菌（*S. equinus*）。

菌体形态为圆形或椭圆形，成双或短链状排列。少数菌株有荚膜。和大多数链球菌不同，营养要求低，在普通琼脂平板上菌落较大，直径 1~2mm。血平板上多数呈 α 溶血或不溶血。牛链球菌在含 65g/L NaCl 肉汤培养基中不能生长，偶尔引起心肌炎，临床上与结肠癌病人发生的败血症有关。D 群链球菌遗传学上与其他链球菌相关性较低。

D 群链球菌正常寄居在皮肤、上呼吸道、消化道和泌尿生殖道。**D 群链球菌感染者多为老年人、中青年女性、衰弱或肿瘤病人**。败血症多继发于生殖泌尿道感染，皮肤、胆道、肠道等感染也可作为原发病灶。D 群链球菌对青霉素的敏感性较低，耐药菌株不断增加。

（三）甲型溶血性链球菌

甲型溶血性链球菌亦称**草绿色链球菌**（viridans streptococcus），排列多成双或短链状。血平板上菌落周边呈 α 溶血。常寄居于上呼吸道、口腔、消化道、女性生殖道，偶见于皮肤。对人类

笔记

致病的有**变异链球菌**(*S. mutans*)、唾液链球菌(*S. salivarius*)、缓症链球菌(*S. mitis*)和血链球菌(*S. sanguis*)等菌种。**甲型溶血性链球菌不被胆汁溶菌并且 Optochin 试验阴性。**

甲型溶血性链球菌是感染性心内膜炎最常见的致病菌，也可成为脑、肝和腹腔内感染的病原菌。当拔牙或摘除扁桃体时，寄居在口腔、龈隙中的这类细菌可侵入血流引起菌血症。一般情况下，少量菌很快被肝、脾、淋巴结和骨髓中的吞噬细胞清除。但在心瓣膜有病损或人工瓣膜患者，细菌就可停留繁殖，引起**亚急性细菌性心内膜炎**。

变异链球菌与常见病龋齿关系密切，系厌氧菌。根据细胞壁多糖抗原分为 a、b、c、d、e、f、g 和 h 八个血清型。从牙菌斑和龋齿病变中分离出的菌株以 c 型最多，约占 80%，其致病机制为该菌的**葡糖基转移酶**(glucosyl transferase，GTF)能分解**蔗糖**使其产生高分子量、黏性大的不溶性**葡聚糖**，借此将口腔中数量众多的菌群黏附于牙面形成菌斑。这些菌群，尤其是其中的乳杆菌能发酵多种糖类产生大量的酸，使局部 pH 降达 4.5 左右，导致牙釉质及牙质脱钙，造成龋损。

第三节 肠 球 菌 属

肠球菌属(*E. enterococcus*)现属肠球菌科，有 29 个种和亚种。肠球菌是人类和动物肠道正常菌群的一部分，在外界环境中亦存在。近年的研究证实**肠球菌具有致病性，是医院感染的重要病原菌**。

一、生物学性状

(一) 分类

最初认为肠球菌属肠内的革兰阳性球菌，归入链球菌属，随着血清分型系统的建立，肠球菌又被划为 D 群链球菌。后来发现肠球菌在生理、生化特性方面不同于非肠球菌 D 群链球菌(牛链球菌)，如肠球菌能在高盐和胆汁培养基中生长，可耐受 60℃ 30 分钟。结合 DNA 杂交分析，现已将肠球菌从链球菌属中分离出来，建立了肠球菌科肠球菌属。肠球菌属由**粪肠球菌**(*E. faecalis*)、**屎肠球菌**(*E. faecium*)和坚韧肠球菌(*E. durans*)等 29 个种组成。**其中对人类致病者主要为粪肠球菌和屎肠球菌**。在临床分离菌中粪肠球菌占 85%~95%、屎肠球菌占 5%~10%，其余少数为坚韧肠球菌和其他肠球菌。

(二) 形态与染色

肠球菌为圆形或椭圆形、**呈链状排列的革兰阳性球菌**，无芽胞，无鞭毛，为需氧或兼性厌氧菌，触酶阴性。本菌对营养的要求较高，在含有血清的培养基上生长良好。在血平板上经 37℃ 培养 18 小时后，可形成灰白色、不透明、表面光滑、直径 0.5~1mm 大小的圆形菌落。不同的菌株表现为不同的溶血现象，典型菌落为不溶血性，但也可出现 α 型溶血或 β 型溶血。与链球菌显著不同的是它能在 pH 9.6、65g/L NaCl 和 400g/L 胆盐中生长，并对许多抗菌药物表现为固有耐药。

二、致 病 性

肠球菌的毒力不强，肠球菌并不会产生毒素或水解酶，很少引起蜂窝织炎和呼吸道感染。肠球菌只有在一定的条件下(如必须在宿主组织定植并能抵抗机体的免疫防御机制后)才引起组织病理改变，导致感染。

(一) 致病物质

1. **碳水化合物黏附素**(carbohydrate adhesins) 肠球菌可通过表面的黏附素吸附至肠道、尿路上皮细胞及心脏细胞。这些黏附素的表达受细菌生长环境的影响。

笔记

2. **聚合物**(aggregation substance)**因子** 肠球菌可产生一种表面蛋白，能聚集供体与受体菌，

以利质粒转移，在体外增强其对肾小管上皮细胞的黏附。

3. 细胞溶素（cytolysin） 肠球菌质粒编码产生，可加重感染的严重程度。

4. 多形核白细胞趋化因子 粪肠球菌产生的该因子可介导与肠球菌感染有关的炎症反应。

肠球菌还能诱发血小板聚集及细胞因子依赖纤维蛋白的产生，这与肠球菌心内膜炎的发病机制有关。此外，细菌的生长环境亦可影响肠球菌与多形核白细胞反应。最初认为肠球菌感染为内源性感染，归因于病人自身的肠道菌群。最近研究显示耐药肠球菌可在医院内病人之间传播，而且这些菌株可在护士及其他医务工作者身上寄生和繁殖，造成医院感染。

（二）肠球菌的耐药性

肠球菌的耐药性及医院感染已引起广泛关注。**肠球菌是医院感染重要的致病菌，随着抗菌药物的广泛应用，肠球菌耐药现象日益严重**，特别是携带万古霉素耐药基因质粒的传播，引起难治性感染。肠球菌细胞壁坚厚，对许多抗生素表现为固有耐药，屎肠球菌比粪肠球菌更易耐药。

1. 对青霉素耐药机制 肠球菌能产生特殊的青霉素结合蛋白（PBP），一般对青霉素敏感，当其与青霉素的亲和力减低，可导致耐药，以屎肠球菌多见。青霉素不能致肠球菌自溶，青霉素对肠球菌只起抑菌作用，而非杀菌作用。少数情况下，细菌可产生大量青霉素酶而引起耐药。

2. 对氨基糖苷类的耐药性 肠球菌细胞壁渗透障碍可导致中度耐药，细菌质粒介导的氨基糖苷类钝化酶则导致高度耐药。高度耐药使青霉素或糖肽类与氨基糖苷类的协同作用消失。测定氨基糖苷类的耐药程度，对治疗有重要意义。

3. 对万古霉素的耐药性 肠球菌含有抗万古霉素的基因，分为 Van A~E 5 个型，VanA 基因位于转座子上，有高度抗药性，可转移到其他菌种。其他的抗药基因位于染色体上。

肠球菌在体内可利用外源叶酸，使磺胺甲噁唑-甲氧苄啶类药物失去抗菌作用。

（三）所致疾病

肠球菌是医院感染的重要病原菌。容易在年老及虚弱、表皮黏膜破损以及因为使用抗生素而使正常菌落平衡改变的病患身上产生感染。

1. 尿路感染 为粪肠球菌所致感染中最为常见的，绝大部分为医院感染。肠球菌的医院内尿路感染仅次于大肠埃希菌。其发生多与留置导尿管、其他器械操作和尿路结构异常有关。一般表现为膀胱炎、肾盂肾炎，少数表现为肾周围脓肿等。

2. 腹腔、盆腔感染 肠球菌感染居第 2 位。

3. 败血症 肠球菌感染居第 3 位，低于凝固酶阴性葡萄球菌和金黄色葡萄球菌的感染。87% 为粪肠球菌，其次为屎肠球菌和坚韧肠球菌。入侵途径多为中心静脉导管、腹腔、盆腔化脓性感染、泌尿生殖道感染、胆道感染和烧伤创面感染等。患者多为老年人、中青年女性、衰弱或肿瘤病人。

4. 心内膜炎 约 5%~20% 的心内膜炎由肠球菌引起。

肠球菌还可引起外科伤口、烧伤创面、皮肤软组织及骨关节感染。该菌很少引起呼吸道感染和原发性蜂窝织炎。

三、防治方法

病人防御机制正常时，大部分肠球菌感染经治疗可获痊愈。尿路感染病原菌为非产酶株，可单独应用青霉素、氨苄西林或万古霉素。大部分肠球菌对呋喃妥因敏感，已成功用于尿路感染。肠球菌引起的心内膜炎、脑膜炎等感染的治疗需选择杀菌作用的抗生素，常用青霉素或氨苄西林与氨基糖苷类药物联合用药抗菌治疗。控制耐万古霉素的肠球菌感染在于依据药敏试验和临床效果，调整用药。对耐万古霉素肠球菌感染的散布要实施严格的隔离及合理、谨慎使用万古霉素。

笔记

第四节 奈 瑟 菌 属

奈瑟菌属(*Neisseria*)是一群**革兰阴性**球菌,常成双排列。无鞭毛,无芽胞,有荚膜和菌毛。**专性需氧**,能产生氧化酶和触酶。此菌属细菌常可发酵多种糖类,产酸,不产气。糖发酵实验可用来鉴别奈瑟菌。

奈瑟菌属包括**脑膜炎奈瑟菌**(*N. meningitidis*)、**淋病奈瑟菌**(*N. gonorrhoeae*)、黏液奈瑟菌等23个种和亚种。人类是奈瑟菌属细菌的自然宿主,对人致病的只有脑膜炎奈瑟菌和淋病奈瑟菌,其余均为鼻、咽喉和口腔黏膜的正常菌群。

一、脑膜炎奈瑟菌

脑膜炎奈瑟菌俗称脑膜炎球菌(meningococcus),是**流行性脑脊髓膜炎(流脑)**的病原菌。

(一) 生物学性状

1. **形态与染色** **肾形或豆形革兰阴性双球菌**,两菌的接触面较平坦或略向内陷,直径0.6~0.8μm。排列较不规则,单个、成双或4个相连等。**在患者脑脊液中,多位于中性粒细胞内,形态典型**(图8–5)。新分离菌株大多有荚膜和菌毛。

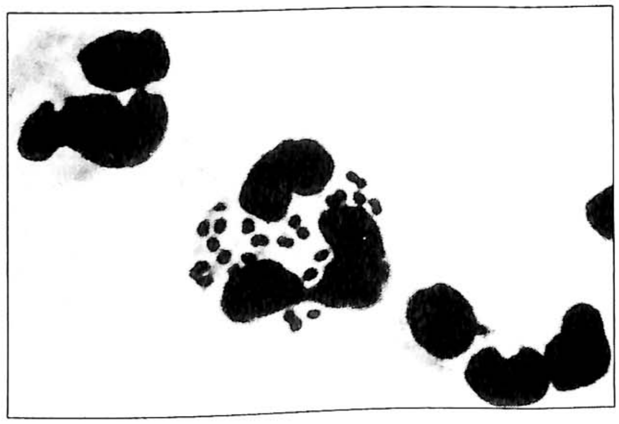


图8–5 脑膜炎奈瑟菌
(脑脊液涂片 ×1500)

2. **培养特性** 营养要求较高,需在含有血清、血液等培养基中方能生长。常用经80℃以上加温的血琼脂平板;色似巧克力,故名**巧克力(色)培养基**,专性需氧,在5% CO_2条件下生长更佳。最适pH为7.4~7.6。最适生长温度37℃,孵育24小时后形成直径1.0~1.5mm的无色、圆形、光滑、透明,似露滴状的菌落。在血琼脂平板上不溶血。在血清肉汤中呈混浊生长。产生自溶酶,人工培养物超过48小时常死亡。自溶酶经60℃ 30分钟或甲醛液处理均可使之破坏。

3. **生化反应** 大多数脑膜炎奈瑟菌分解葡萄糖和麦芽糖,产酸,不产气。

4. **抗原结构与分类** 脑膜炎奈瑟菌的主要表层抗原有三种。

(1) **荚膜多糖群特异性抗原**:目前国外已分成A、B、C、D、H、I、K、X、Y、Z、29E、W135和L等13个血清群,以C群致病力最强。对人类致病的多为A、B、C群,**我国95%以上为A群**,近些年发现B和C群的感染。

(2) 外膜蛋白型特异性抗原:根据细菌外膜蛋白组分的不同,脑膜炎奈瑟菌的各血清群又可分为若干血清型,但A群所有菌株的外膜蛋白相同。

(3) **脂寡糖抗原**:由外膜上糖脂组成,具有抗原性,**是脑膜炎奈瑟菌的主要致病物质**。可据LOS进行免疫学分型,我国把A群分为L9、L10和L11三型。

5. **抵抗力** 对理化因素的抵抗力很弱。对干燥、热力、消毒剂等均敏感。

(二) 致病性

1. **致病物质**

(1) 荚膜:新分离的脑膜炎奈瑟菌有荚膜,荚膜有抗吞噬作用,能增强细菌的侵袭力。

(2) 菌毛:可黏附至咽部黏膜上皮细胞的表面,利于进一步侵入。

(3) IgA1蛋白酶:脑膜炎奈瑟菌产生的IgA1蛋白酶破坏IgA1,帮助细菌黏附于细胞黏膜。

笔记

(4) LOS：是脑膜炎奈瑟菌的主要致病物质。病菌侵入机体繁殖后，因自溶或死亡而释放出LOS。LOS作用于小血管和毛细血管，引起坏死、出血，导致皮肤瘀斑和微循环障碍。严重败血症时，引起肾上腺出血，并因大量LOS释放可造成DIC及中毒性休克。

2. 所致疾病 脑膜炎奈瑟菌是**流行性脑脊髓膜炎**（流脑）的病原菌，人类是其唯一易感宿主。传染源是**病人和带菌者**。在流行期间，正常人群带菌率达70%以上，是重要的传染源。成人的抵抗力强，6个月至2岁儿童因免疫力弱，是易感人群，发病率较高。

病菌主要**经飞沫传播**方式侵入人体的鼻咽部，并在局部繁殖。潜伏期2~3天，长者可达10天。按病菌毒力、数量和机体免疫力高低，流脑病情复杂多变、轻重不一。一般表现为3种临床类型，即**普通型**、**暴发型**和**慢性败血症型**。普通型占90%左右。患者先有上呼吸道炎症，继而大量繁殖的病菌从鼻咽部黏膜进入血流，引起菌血症或败血症。引起突发寒战高热、恶心和出血性皮疹。细菌到达中枢神经系统主要侵犯脑脊髓膜，引起化脓性炎症，产生剧烈头疼、喷射性呕吐、颈项强直等脑膜刺激症状。细菌可引起细小血管栓塞，导致皮肤出现瘀斑。

（三）免疫性

机体对脑膜炎奈瑟菌的免疫性**以体液免疫为主**。显性、隐性感染和疫苗接种后两周，血清中群特异多糖抗体IgG、IgM和IgA水平升高。血清中群特异多糖抗体和型特异外膜蛋白抗体在补体存在下能杀伤脑膜炎奈瑟菌。人类可从正常寄居于鼻咽部的、不致病脑膜炎奈瑟菌间的交叉抗原而获得一定的免疫性。6个月婴儿可通过母体获得抗体，产生自然被动免疫。

（四）微生物学检查法

采集病人的脑脊液、血液或刺破出血斑取出的渗出物，直接涂片染色后镜检，**如发现中性粒细胞内、外有革兰阴性双球菌，可做出初步诊断**。脑膜炎奈瑟菌对低温和干燥极敏感，标本采取后应注意保暖、保湿并立即送检。血液或脑脊液先接种至血清肉汤培养基增菌，阳性者作生化反应和玻片凝集试验鉴定。脑膜炎奈瑟菌很容易自溶，可用敏感、特异的对流免疫电泳、SPA协同凝集试验和ELISA等方法快速诊断血液或脑脊液中的**可溶性抗原**。

（五）防治原则

关键是尽快控制传染源、切断传播途径和提高人群免疫力。做到早发现、早诊断、早治疗和早防控。对儿童注射**流脑荚膜多糖疫苗**进行特异性预防，常用A、C二价或A、C、Y和W135四价混合多糖疫苗。流行期间儿童可口服磺胺药物等预防。治疗首选药物为青霉素G，剂量要大，对过敏者可选用红霉素。

二、淋病奈瑟菌

淋病奈瑟菌俗称淋球菌（gonococcus），是引起**人类泌尿生殖系统黏膜化脓性感染（淋病）**的病原菌，也是我国目前流行的发病率最高的性传播疾病。

（一）生物学性状

1. 形态与染色 **革兰染色阴性球菌**，直径0.6~0.8μm。常**成双排列**，两菌接触面平坦，似一对咖啡豆。**脓汁标本中，大多数淋病奈瑟菌常位于中性粒细胞内**。但慢性淋病病人的淋病奈瑟菌多分布在细胞外。无芽胞，无鞭毛，有荚膜和菌毛。用碱性亚甲蓝液染色时，菌体呈深蓝色。

2. 培养特性 **专性需氧**，初次分离培养时须供给5% CO_2。营养要求高，**巧克力（色）血琼脂平板**是适宜培养基。最适生长温度为35~36℃，孵育48小时后，形成凸起、圆形、灰白色、直径0.5~1.0mm的光滑型菌落。根据菌落大小、色泽分为T1~T5五种类型，新分离株为T1、T2型，菌落小，有菌毛。淋病奈瑟菌抵抗力弱，对热、冷、干燥和消毒剂极度敏感，与脑膜炎奈瑟菌相似。只分解葡萄糖，产酸不产气，不分解其他糖类。氧化酶试验阳性。

3. 抗原结构与分类 淋病奈瑟菌的表层抗原至少可以分为三类。

(1) 菌毛蛋白抗原：有毒菌株有**菌毛**，有利于黏附在细胞表面，可抵抗中性粒细胞的杀菌作

笔记

用。由于不同菌株的菌毛抗原性变异较大，有利于逃逸机体的免疫力。

(2) 脂寡糖抗原(LOS)：由脂质 A 和核心寡糖组成，与其他革兰阴性菌的 LPS 相似，具有内毒素活性，易发生变异。

(3) 外膜蛋白抗原：包括 P Ⅰ、P Ⅱ和 P Ⅲ。P Ⅰ是主要的外膜蛋白，占淋病奈瑟菌外膜总重量的 60% 以上，是淋病奈瑟菌分型的主要依据，至少分为 18 个不同血清型，有助于流行病学调查。

(二) 致病性

1. 致病物质

(1) 菌毛：淋病奈瑟菌进入尿道后，通过**菌毛**黏附到柱状上皮细胞表面，在局部形成小菌落后；再侵入细胞增殖。T1、T2 型的淋病奈瑟菌对人类有毒力，T3~T5 型则无；其差异在于前一类细菌有菌毛，后一类则无。**有菌毛的细菌可黏附至人类尿道黏膜上**，不易被尿液冲掉；**抗吞噬作用明显**，被吞噬后仍可在吞噬细胞内寄生。

(2) 外膜蛋白：P Ⅰ可直接插入中性粒细胞的膜上，严重破坏膜结构的完整性导致膜损伤。P Ⅱ分子参与淋病奈瑟菌间以及菌体与一些宿主细胞间的黏附作用。P Ⅲ则可阻抑杀菌抗体的活性。

(3) 脂寡糖：淋病奈瑟菌的胞壁脂多糖(即内毒素)与补体、IgM 等共同作用，在局部形成炎症反应。此外，淋病奈瑟菌的胞壁脂多糖与人类细胞表面糖脂分子结构相似，可逃避机体免疫系统的识别。

(4) IgA1 蛋白酶：淋病奈瑟菌产生 IgA1 蛋白酶，能破坏黏膜表面存在的特异性 IgA1 抗体，使细菌仍能粘附至黏膜表面。

2. 所致疾病 人类是淋病奈瑟菌的唯一宿主。人类**淋病**主要通过**性接触**，淋病奈瑟菌侵入尿道和生殖道而感染，其潜伏期为 2~5 天。当母体患有淋菌性阴道炎或子宫颈炎时，婴儿出生时易患上**淋球菌性结膜炎**。成人感染初期，一般引起男性前尿道炎，女性尿道炎与子宫颈炎。患者症状为：尿痛、尿频、尿道流脓、宫颈可见脓性分泌物等。如进一步扩散到生殖系统，引起慢性感染，男性发生前列腺炎、精囊精索炎和附睾炎；女性出现前庭大腺炎和盆腔炎等，是导致不育的原因之一。

(三) 免疫性

人类对淋病奈瑟菌的感染**无天然抵抗力**。多数患者可以自愈；并出现特异性 IgM、IgG 和分泌型 IgA 抗体，但**免疫不持久，再感染和慢性患者较普遍存在**。

(四) 微生物学检查法

取泌尿生殖道脓性分泌物或子宫颈口表面分泌物直接涂片，革兰染色后镜检。**在中性粒细胞内发现革兰阴性双球菌，有诊断价值**。淋病奈瑟菌抵抗力弱，标本采集后应注意保暖保湿，立即送检接种。为抑制杂菌生长，可在培养基中加入抗生素如多粘菌素 B 和万古霉素。可提高咽部、直肠部位或宫颈标本的淋病奈瑟菌检出率。标本接种在预先加温的巧克力(色)血琼脂平板或 Thayer-Martin(T-M)培养基，培养的最适温度为 35~36℃，在 5% CO_2 下孵育 36~48 小时，菌落涂片、染色，镜下呈现革兰阴性双球菌即可诊断。还可挑取可疑菌落进一步作氧化酶试验、糖发酵试验或直接免疫荧光试验等确证。此外，亦可采用核酸杂交技术或核酸扩增技术检测淋病奈瑟菌，但要求设备条件高，且难以确定淋病奈瑟菌对抗生素的敏感性，故基层推广尚有困难。

(五) 防治原则

淋病是一种性传播疾病，是一个社会问题。成人淋病基本上是通过性交传染，污染的毛巾、衣裤、被褥等也起一定传播作用。开展防治性病的知识教育、禁止卖淫嫖娼以及防止不正当的两性关系是非常重要的环节。治疗可选用青霉素、新青霉素及博来霉素等药物。近年来发现耐药菌株不断增加，给防治多重耐药的淋病奈瑟菌性病带来困难，除做药物敏感试验指导合理选择药物外，还应治疗与淋病患者性接触者。目前尚无有效的疫苗供特异性预防。婴儿出生时，

笔记

不论母亲有无淋病，都应以氯霉素链霉素合剂滴入双眼，预防新生儿淋球菌性结膜炎的发生。

三、其他医学相关奈瑟菌

奈瑟菌属的细菌除淋病奈瑟菌和脑膜炎奈瑟菌是致病菌外，其他奈瑟菌均可从人体分离得到，多属人类呼吸道的正常菌群。

与医学相关其他奈瑟菌有：

1. **干燥奈瑟菌**（*N. Sicca*） 在血琼脂干板上菌落形态可变，在盐水中自凝，与黏液奈瑟菌在血清学上关系密切。发现在人鼻咽部、唾液和痰中。

2. **金黄奈瑟菌**（*N. Flavescens*） 菌落光滑、透明、产生叶黄素，生长需要复杂营养，发现于流行性脑脊髓膜炎患者的脑脊液及败血症病人的血液中。为罕见菌种。

3. **浅黄奈瑟菌**（*N. Subflava*） 菌落圆形、光滑、半透明、黏，有些菌株能产生淡黄色色素，在生理盐水中常自凝。发现在人鼻咽部的分泌物中，罕见于流行性脑脊髓膜炎病人的脑脊液中。

4. **黏膜奈瑟菌**（*N. mucosa*） 菌落圆形、黏，绝大部分菌株不产生色素，培养基中含血清、血液及环境中保持一定湿度有利该菌生长。发现于人的咽部。偶尔对人致病，引起肺炎。

5. **乳糖发酵奈瑟菌**（*N. lactamica*） 简称乳糖发酵菌，菌落圆形、光滑、半透明，似奶油状，常为淡黄色，比脑膜炎球菌的菌落小，无光泽。乳糖发酵菌不致病，可寄生在婴儿和儿童鼻咽部成为带菌菌株。是人类咽部的长驻菌。乳糖发酵菌与脑膜炎球菌的 DNA 序列大部分相同，带此菌者可以产生抗 A 群脑膜炎球菌的交叉抗体，可能有抗脑膜炎感染的作用。

6. **灰色奈瑟菌**（*N. Cinerea*） 菌落淡灰或白色，能产生碳酸脱水酶。发现于人的鼻咽部。

（楚雍烈）

笔记

第九章　肠杆菌科

肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)细菌是一大群生物学性状相似的革兰阴性杆菌,常寄居在人及动物的肠道内,亦存在于土壤、水和腐物中。肠杆菌科细菌种类繁多,根据生化反应、抗原结构、基因组 DNA 序列分析,目前已有 44 个属,170 多个种。尽管种属复杂,但该科经常引起人类感染的菌种却不到 20 个(表 9–1),临床标本中约有 40 个种可以检出。

表 9–1　常见的引起人类感染的肠杆菌科细菌

属	种
枸橼酸杆菌属(*Citrobacter*)	弗劳地枸橼酸杆菌(*C. freundii*)、柯塞枸橼酸杆菌(*C. koseri*)
肠杆菌属(*Enterobacter*)	产气肠杆菌(*E. aerogenes*)、阴沟肠杆菌(*E. cloacae*)
埃希菌属(*Escherichia*)	大肠埃希菌(*E. coli*)
克雷伯菌属(*Klebsiella*)	肺炎克雷伯菌肺炎亚种(*K. pneumoniae subsp. pneumoniae*)、催娩克雷伯菌(*K. oxytoca*)
摩根菌属(*Morganella*)	摩根摩根菌摩根亚种(*M. morganii subsp. morganii*)
变形杆菌属(*Proteus*)	奇异变形杆菌(*P. mirabilis*)、普通变形杆菌(*P. vulgaris*)
沙门菌属(*Salmonella*)	肠道沙门菌肠道亚种(*S. enterica subsp. enterica*)
沙雷菌属(*Serratia*)	黏质沙雷菌黏质亚种(*S. marcescens subsp. marcescens*)
志贺菌属(*Shigella*)	宋内志贺菌(*S. sonnei*)、福氏志贺菌(*S. flexneri*)、痢疾志贺菌(*S. dysenteriae*)、鲍氏志贺菌(*S. boydii*)
耶尔森菌属(*Yersinia*)	鼠疫耶尔森菌(*Y. pestis*)、小肠结肠炎耶尔森菌小肠结肠炎亚种(*Y. enterocolitica subsp. enterocolitica*)、假结核耶尔森菌假结核亚种(*Y. pseudotuberculosis subsp. pseudotuberculosis*)

肠杆菌科的细菌与医学的关系大致可分为三种情况:①致病菌:有少数细菌易于引起人类疾病,如伤寒沙门菌、志贺菌、鼠疫耶尔森菌等;②机会致病菌:一部分细菌属于正常菌群,但当宿主免疫力降低或细菌移位至肠道以外部位时,即可引起机会性感染,如大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、奇异变形杆菌等;③由正常菌群转变而来的致病菌:如引起胃肠炎的大肠埃希菌即是由于获得位于质粒、噬菌体或毒力岛上的毒力因子基因而成为致病菌。

肠杆菌科细菌的感染可累及身体的任何部位。其传染源可能来自于动物宿主(如大多数沙门菌感染、耶尔森菌感染等);来自于带菌者(志贺菌感染、伤寒沙门菌感染等);或来自于细菌的内源性播散(如大肠埃希菌的机会性感染)。

肠杆菌科细菌具有下列共同生物学特性:

1. 形态与结构　为中等大小(0.3~1.0)μm ×(1~6)μm 的革兰阴性杆菌,**大多有菌毛,多数有周鞭毛,少数有荚膜,全部不产生芽胞**。

2. 培养　兼性厌氧或需氧。营养要求不高,在普通琼脂平板上可形成直径 2~3mm、湿润、光滑、灰白色的中等大小菌落;在血琼脂平板上,有些菌落可产生溶血环;在液体培养基中,呈均匀混浊生长。

3. 生化反应　过氧化氢酶阳性,能还原硝酸盐为亚硝酸盐,氧化酶阴性,后者在鉴别肠道杆菌和其他发酵与不发酵的革兰阴性杆菌上有重要价值。**在肠杆菌科中,乳糖发酵试验可初步鉴别志贺菌、沙门菌等致病菌和其他大部分非致病肠道杆菌,前两者不发酵乳糖**。

笔记

4. 抗原结构 主要有**菌体 O 抗原、鞭毛 H 抗原和荚膜抗原**。其他尚有菌毛抗原。

(1) O 抗原:存在于细胞壁脂多糖(LPS)的最外层,具有属特异性。脂多糖的核心多糖为肠杆菌科的共同抗原。O 抗原耐热,100℃不被破坏。细菌若失去 O 特异性多糖,菌落由光滑型(S)转变为粗糙型(R),为 S-R 变异。O 抗原主要引起 IgM 型抗体。

(2) H 抗原:存在于鞭毛蛋白,不耐热,60℃ 30 分钟即被破坏。细菌失去鞭毛后,O 抗原外露,是为 H-O 变异,H 抗原主要引起 IgG 型抗体。

(3) 荚膜抗原:具有型特异性。存在于 O 抗原外围的多糖,能阻止 O 抗原凝集现象,但 60℃ 30 分钟可去除。重要的有伤寒沙门菌的 Vi 抗原,大肠埃希菌的 K 抗原等。

5. 抵抗力 因无芽胞,对理化因素抵抗力不强。60℃ 30 分钟即死亡。易被一般化学消毒剂杀灭。常用氯进行饮水消毒。胆盐、煌绿等染料对非致病性肠杆菌科细菌有抑制作用,借以制备选择培养基来分离有关病原菌。

6. 变异 肠杆菌科细菌易出现变异菌株,除自发突变外,更因相互处于同一密切接触的肠道微环境,还可以经噬菌体、质粒、转座子和毒力岛的介导,通过转导、接合、转化等基因的转移和重组方式,使受体菌获得新的性状而导致变异。其中最常见的是耐药性变异,此外尚有毒素产生、生化反应、抗原性等特性的改变。

第一节 埃希菌属

埃希菌属(*Escherichia*)有 6 个种,只有**大肠埃希菌**(*E. coli*)是临床最常见、最重要的一个菌种,主要表现在:①大肠埃希菌是肠道中重要的正常菌群,并能为宿主提供一些具有营养作用的合成代谢产物;②在宿主免疫力下降或细菌侵入肠道外组织器官后,即可成为机会致病菌,引起肠道外感染;③有一些血清型的大肠埃希菌具有致病性,能导致人类胃肠炎;④大肠埃希菌在环境卫生和食品卫生学中,常被用作粪便污染的卫生学检测指标。

一、生物学性状

大小为(0.4~0.7)μm ×(1~3)μm 的革兰阴性杆菌。多数菌株有周身鞭毛,有菌毛,无芽胞(图 9-1)。不同菌株基因组大小差异较大,如 O157:H7 EDL933 株染色体大小为 5.4Mb,且含有 2 个质粒。而 O157:H7 Sakai 株染色体大小为 5.59Mb,并含有 1 个 92.7kb 的质粒。

兼性厌氧,在液体培养基中呈均匀混浊生长。营养要求不高,在普通琼脂平板 37℃培养 24 小时后,形成直径 2~3mm 的圆形、凸起、灰白色 S 型菌落。但在人和动物肠道中繁殖速度要慢得多,成倍增长的时间为一天。在肥沃的土壤表层可存活数月。

能发酵葡萄糖等多种糖类,产酸并产气。绝大多数菌株发酵乳糖。在克氏双糖管中,斜面和底层均产酸产气,硫化氢阴性,动力阳性。可同沙门菌、志贺菌等区别。IMViC 试验(即吲哚、甲基红、VP、枸橼酸盐试验)结果为"+ + - -"。



图 9-1 大肠埃希菌的形态图

大肠埃希菌有 O、H 和 K 三种抗原,是血清学分型的基础。O 抗原超过 170 种。与其他属细菌可有交叉,某些型别 O 抗原与腹泻和泌尿道感染密切相关,H 抗原超过 50 种。与其他肠道菌基本无交叉反应。K 抗原在 100 种以上,多糖性质,可分为 2 组(组 1 和组 2)。

大肠埃希菌能产生大肠菌素(colicin),大肠菌素产生菌株对自身的细菌素有抗性,可用于大肠埃希菌的分型。

二、致病性和免疫性

(一) 致病物质

1. 黏附素(adhesin) 大肠埃希菌的黏附素能使细菌紧密黏着在泌尿道和肠道的细胞上,避免因排尿时尿液的冲刷和肠道的蠕动作用而被排除。大肠埃希菌黏附素的特点是特异性高。它们包括定植因子抗原Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ(colonization factor antigen,CFA/Ⅰ,CFA/Ⅱ,CFA/Ⅲ);集聚黏附菌毛Ⅰ和Ⅲ(aggregative adherence fimbriae,AAF/Ⅰ,AAF/Ⅲ);束形成菌毛(bundle forming pili,Bfp);紧密黏附素(intimin);P菌毛(因能与P血型抗原结合而命名);Dr菌毛(能与Dr血型抗原结合);Ⅰ型菌毛(其受体含有D-甘露糖)和侵袭质粒抗原(invasion plasmid antigen,Ipa)蛋白等。

2. 外毒素 大肠埃希菌能产生多种类型的外毒素。它们是志贺毒素Ⅰ和Ⅱ(Shiga toxins,Stx-1,Stx-2);耐热肠毒素a和b(heat stable enterotoxin, STa, STb);不耐热肠毒素Ⅰ和Ⅱ(heat labile enterotoxin,LT-Ⅰ,LT-Ⅱ);溶血素A(hemolysin,HlyA)等。后者在尿路致病性大肠埃希菌(uropathogenic *E. coli*,UPEC)致病中有重要作用。

此外,还有内毒素、荚膜、载铁蛋白和Ⅲ型分泌系统(type Ⅲ secretion system)等。载铁蛋白可通过获取铁离子而导致宿主损伤;Ⅲ型分泌系统犹如分子注射器,是指细菌接触宿主细胞后,能向宿主细胞内输送毒性基因产物的细菌效应系统,约由20余种蛋白组成。

(二) 所致疾病

1. 肠道外感染 多数大肠埃希菌在肠道内不致病,但如移位至肠道外的组织或器官则可引起肠外感染。肠道外感染以化脓性感染和泌尿道感染最为常见。化脓性感染如腹膜炎、阑尾炎、手术创口感染、败血症和新生儿脑膜炎;泌尿道感染如尿道炎、膀胱炎、肾盂肾炎常见。大肠埃希菌常来源于病人肠道,为内源性感染(新生儿脑膜炎例外)。

(1) 败血症:大肠埃希菌是从败血症患者中分离到的最常见的革兰阴性菌(占45%)。大肠埃希菌败血症常由大肠埃希菌性尿道和胃肠道感染引起,如肠穿孔导致的伴有败血症的腹腔内感染。大肠埃希菌败血症具有很高的死亡率,尤其对婴儿、老人或免疫功能低下者或原发感染为腹腔或中枢神经系统的患者。

(2) 新生儿脑膜炎:大肠埃希菌是小于1岁婴儿中枢神经系统感染的主要病原体之一。

(3) 泌尿道感染:引起泌尿道感染的大肠埃希菌大多来源于结肠,污染尿道,上行至膀胱,甚至肾脏和前列腺,为上行性感染。女性泌尿道感染率比男性高。性交、怀孕、男性前列腺肥大等为危险因素。插管和膀胱镜也有可能带进细菌,造成感染的危险。尿道感染的临床症状主要有尿频、排尿困难、血尿和脓尿等。虽然大多数大肠埃希菌菌株都能引起泌尿道感染,但由某些特殊的血清型引起的感染最为常见,这些能引起泌尿系统感染的特殊的血清型统称为**尿路致病性大肠埃希菌**(uropathogenic *E. coli*),常见的有O1、O2、O4、O6、O7、O16、O18、O75等,这些血清型能产生特别的毒力物质,如P菌毛,AAF/Ⅰ,AAF/Ⅱ和Dr菌毛等黏附素和溶血素HlyA,后者能溶解红细胞和其他一些类型细胞,导致细胞因子的释放和炎症反应。

2. 胃肠炎 大肠埃希菌某些血清型可引起人类胃肠炎,与食入污染的食品和饮水有关,为外源性感染,根据其致病机制不同,主要有五种类型(表9-2)。

表9-2 引起胃肠炎的大肠埃希菌

菌株	作用部位	疾病与症状	致病机制	常见O血清型
ETEC	小肠	旅行者腹泻;婴幼儿腹泻;水样便,恶心,呕吐,腹痛,低热	质粒介导LT和ST肠毒素,大量分泌液体和电解质;黏附素	6、8、15、25、27、63、119、125、126、127、128、142

笔记

续表

菌株	作用部位	疾病与症状	致病机制	常见O血清型
EIEC	大肠	水样便，继以少量血便，腹痛，发热	质粒介导侵袭和破坏结肠黏膜上皮细胞	78、115、148、153、159、167
EPEC	小肠	婴儿腹泻；水样便，恶心，呕吐，发热	质粒介导A/E组织病理变化，伴上皮细胞绒毛结构破坏，导致吸收受损和腹泻	26、55、86、111、114、125、126、127、128、142
EHEC	大肠	水样便，继以大量出血，剧烈腹痛，低热或无，可并发HUS、血小板减少性紫癜	溶原性噬菌体编码Stx-Ⅰ或Stx-Ⅱ，中断蛋白质合成；A/E损伤，伴小肠绒毛结构破坏，导致吸收受损	157、26、28ac、111、112ac、124、136、143、144、152、164
EAEC	小肠	婴儿腹泻；持续性水样便，呕吐，脱水，低热	质粒介导集聚性黏附上皮细胞，伴绒毛变短，单核细胞浸润和出血，液体吸收下降	>50个O血清型

(1) **肠产毒素性大肠埃希菌**(enterotoxigenic *E. coli*，ETEC)：ETEC是5岁以下婴幼儿和旅游者腹泻的重要病原菌。在发展中国家极为常见，年发病率估计在650×10^6人次。污染的水源和食物在疾病传播中有重要作用。人与人之间不传播。临床症状可从轻度腹泻至严重的霍乱样腹泻，平均病程3~4天。致病物质主要是肠毒素和定植因子。

ETEC的肠毒素有不耐热和耐热两种，均由质粒编码。**不耐热肠毒素Ⅱ**(heat labile enterotoxin，LT-Ⅱ)与人类疾病无关，LT-Ⅰ是引起人类胃肠炎的致病物质，在结构和功能上与霍乱弧菌产生的肠毒素密切相关，对热不稳定，65℃ 30分钟可被破坏。LT-Ⅰ由1个A亚单位和5个B亚单位组成。A亚单位是毒素的活性部位。B亚单位与肠黏膜上皮细胞表面的GM1神经节苷脂(ganglioside)结合后，使A亚单位穿越细胞膜与腺苷环化酶(adenylyl cyclase)作用，令胞内ATP转化为cAMP。胞质内cAMP水平增高后，导致肠黏膜细胞内水、氯和碳酸氢钾等过度分泌至肠腔，同时钠的再吸收减少，导致可持续几天的腹泻。毒素还可刺激前列腺素的释放和炎症因子的产生，进一步导致水分的丧失。LT与霍乱肠毒素两者间的氨基酸组成同源性达75%左右；它们的抗原性高度交叉；两者B亚单位的肠黏膜结合受体都是同一个GM1神经节苷脂。LT-Ⅰ可刺激机体产生相应中和抗体，有保护作用。

ETEC的耐热肠毒素(heat stable enterotoxin，ST)可分STa和STb两型，STb与人类疾病无关，STa为低分子量多肽(MW 1500~4000)，对热稳定，100℃加热20分钟仍不失去活性，免疫原性差。STa的作用机制与LT-Ⅰ不同，其引起腹泻是通过激活肠黏膜细胞上的鸟苷环化酶(guanylyl cyclase)，使胞内cGMP量增多而导致腹泻。

编码LT-Ⅰ和STa的基因存在于一个转移性质粒上，该质粒也同时携带编码黏附素(CFA/Ⅰ，CFA/Ⅱ，CFA/Ⅲ)的基因。黏附素是ETEC致病的另一重要因素。在小猪已经证实大肠埃希菌失去定植因子K88就丧失了致小猪腹泻的能力。

(2) **肠侵袭性大肠埃希菌**(enteroinvasive *E. coli*，EIEC)：EIEC在表型和致病性方面与志贺菌密切相关。主要侵犯较大儿童和成人。所致疾病很像菌痢，有发热、腹痛、腹泻、脓血便及里急后重等症状。EIEC不产生肠毒素，能侵袭结肠黏膜上皮细胞并在其中生长繁殖，最后杀死感染细胞，再扩散到邻近正常细胞，导致组织破坏和炎症发生。EIEC的侵袭结肠黏膜上皮细胞的能力与质粒上携带的一系列侵袭性基因(pInv gene)有关。

(3) **肠致病性大肠埃希菌**(enteropathogenic *E. coli*，EPEC)：是最早发现的引起腹泻的大肠埃希菌。是婴幼儿腹泻的主要病原菌，严重者可致死。该菌在较大儿童和成人的感染少见，可能与产生的保护性免疫有关。EPEC不产生肠毒素及其他外毒素，无侵袭力。病菌先黏附于小肠

笔记

上皮细胞，随后破坏刷状缘、导致微绒毛(microvilli)萎缩、变平，即 A/E(attachment/effacement)组织病理损伤，造成严重水样腹泻。决定 A/E 损伤的基因现知位于染色体毒力岛“肠细胞刷平位点”内，有 40 多个基因。

EPEC 黏附和破坏肠黏膜结构的过程是 Bfp(bundle forming pili)首先介导细菌与细胞的疏松黏附；随后细菌的Ⅲ型分泌系统主动分泌某些蛋白质进入宿主上皮细胞，其中有一种蛋白，称之为转位紧密素受体(translocated intimin receptor，Tir)，就被插入到上皮细胞膜中，作为细菌的一种外膜蛋白黏附素即紧密黏附素(intimin)的受体，介导细菌与细胞的紧密结合。细胞内肌动蛋白重排，导致微绒毛的破坏。严重干扰对肠道中液体等的吸收功能。

(4) **肠出血性大肠埃希菌**(enterohemorrhagic *E. coli*，EHEC)：为出血性结肠炎和溶血性尿毒综合征的病原体。1982 年首先在美国发现，血清型主要为 O157:H7。1996 年日本大阪地区发生流行，患者逾万人，死亡 11 人。5 岁以下儿童易感染，感染菌量可低于 100 个，夏季多见，症状轻重不一，可为轻度水泻至伴剧烈腹痛的血便。约 10% < 10 岁患儿可并发有急性肾衰竭、血小板减少、溶血性贫血的溶血性尿毒综合征(hemolytic uremic syndrome，HUS)，死亡率达 3%~5%。污染食品是EHEC感染的重要传染源，如未煮透牛排和其他肉类制品、水、未经巴氏消毒过的牛奶、果汁和生的蔬菜和水果。牛可能是 O157:H7 的主要储存宿主。

EHEC 菌株表达志贺毒素(曾称 Vero 毒素或志贺样毒素)，即 Stx-Ⅰ 或 Stx-Ⅱ 或二者，引起上皮细胞微绒毛的 A/E 损伤。EHEC 菌株还具有携带多种其他毒性因子的 60-MDa 的质粒。Stx-Ⅰ 与痢疾志贺菌产生的志贺毒素基本相同，Stx-Ⅱ 与 Stx-Ⅰ 有 60% 的同源，两型毒素均由溶原性噬菌体介导。Stx 由 1 个 A 亚单位和 5 个 B 亚单位组成，B 亚单位与宿主细胞特异糖脂受体(Gb3)结合，肠绒毛和肾上皮细胞有高浓度的糖脂受体。A 亚单位内在化后可裂解 60S 核糖体亚单位的 28S rRNA，阻止其与氨酰 tRNA 的结合，终止蛋白质合成，肠绒毛结构的破坏引起吸收减低和液体分泌的相对增加。HUS 的发生在表达 Stx-Ⅱ 的 EHEC 中较多见，因 Stx-Ⅱ 能选择性地破坏肾小球内皮细胞。这种破坏引起肾小球滤过减少和急性肾衰竭。Stx 还能刺激炎症细胞因子(TNF-α，IL-6)的表达，除其他效应外，还可加强糖脂受体的表达。

EHEC 已分离到 50 多个血清型，但引起人类疾病的主要是 O157:H7 血清型。但不同国家的流行株可以不相同。

(5) **肠聚集性大肠埃希菌**(enteroaggregative *E. coli*，EAEC)：EAEC 引起婴儿和旅行者持续性水样腹泻，伴脱水，偶有血便。不侵袭细胞。这类细菌的特点是能在细胞表面自动聚集，形成砖状排列。感染导致微绒毛变短，单核细胞浸润和出血。介导这种排列的是 60-MDa 质粒编码的 Bfp 和 AAF/ Ⅰ 和 AAF/ Ⅱ。EAEC 还能刺激黏液的分泌，促使细菌形成生物被膜覆盖在小肠的上皮上。此外致病物质可能还包括毒素。

三、微生物学检查法

(一) 临床标本的检查

1. **标本** 肠外感染采取中段尿、血液、脓液、脑脊液等；胃肠炎则取粪便。

2. **分离培养与鉴定**

(1) 肠道外感染：除血液标本外，均需作涂片染色检查。分离培养时血液接种肉汤增菌，待生长后再移种血琼脂平板。体液标本的离心沉淀物和其他标本直接划线分离于血琼脂平板，35~37℃孵育 18~24 小时后观察菌落形态。初步鉴定根据 IMViC(+ + − −)试验，最后鉴定根据系列生化反应。尿路感染尚需计数菌落量，每毫升≥ 10 万才有诊断价值。

(2) 肠道内感染：将粪便标本接种于鉴别培养基，挑选可疑菌落并鉴定为大肠埃希菌后，再分别用 ELISA、核酸杂交、PCR 等方法检测不同类型致胃肠炎大肠埃希菌的肠毒素、毒力因子和血清型等特征。

笔记

(二) 卫生细菌学检查

寄居于肠道中的大肠埃希菌不断随粪便排出体外，可污染周围环境、水源、饮料及食品。样品中检出大肠埃希菌愈多，表示被粪便污染愈严重，也间接表明可能有肠道致病菌污染。因此，卫生细菌学以“大肠菌群数”作为饮水、食品等粪便污染的指标之一。

大肠菌群系指在37℃ 24小时内发酵乳糖产酸产气的肠道杆菌，包括埃希菌属、枸橼酸杆菌属、克雷伯菌属及肠杆菌属等。我国《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)规定，在100ml饮用水中不得检出大肠菌群。

四、防治原则

使用人工合成的ST产物与LT B亚单位交联的疫苗可以预防人类ETEC感染。运用O157 LPS抗原作为主要的疫苗成分预防O157感染的疫苗也在研究中。

大肠埃希菌很多菌株都已获得耐一种或几种抗生素的质粒，耐药性非常普遍。因此抗生素治疗应在药物敏感试验的指导下进行，特别是细菌性脑膜炎。

尿道插管和膀胱镜检查应严格无菌操作。对腹泻病人应进行隔离治疗，及时纠正水和电解质平衡，采取各种适宜的措施减少医院感染。

污染的水和食品是ETEC最重要的传染媒介，EHEC则常由污染的肉类和未消毒的牛奶引起，充分的烹饪可减少ETEC和EHEC感染的危险。

第二节 志贺菌属

志贺菌属(*Shigella*)是人类细菌性痢疾的病原菌，俗称痢疾杆菌(dysentery bacterium)。此外，灵长类动物(primate)也是其天然宿主。细菌性痢疾是一种常见病，主要流行于发展中国家，全世界年病例数超过2亿例，其中500万例需住院治疗，年死亡病例达65万例。自2003年以来，根据我国卫生部公布的法定报告传染病发病数和死亡数排序，痢疾发病数总在前五位，死亡数在前十位。

一、生物学性状

大小为(0.5~0.7)μm×(2~3)μm的革兰阴性短小杆菌。无芽胞，无鞭毛，无荚膜，有菌毛(图9-2)。染色体DNA大小介于4.6~5.0Mb之间，并含有0~5个质粒。我国细菌性痢疾的优势流行株福氏志贺菌2a型301株基因组包括一条由4.6Mb的环状染色体，一个含221kb的侵袭性大质粒DCP301，以及另外两个小质粒。

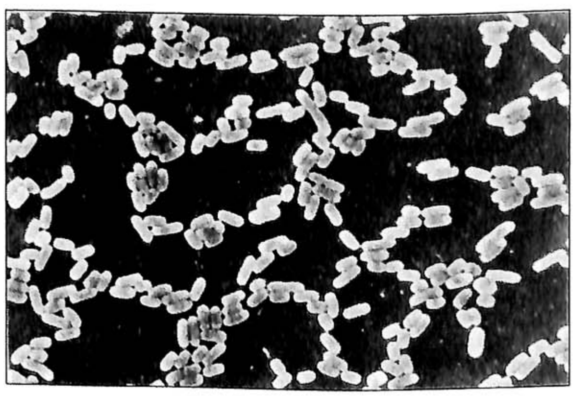


图9-2 福氏志贺菌
(扫描电镜 ×2400，谢念铭提供)

营养要求不高，在普通琼脂平板上经过24小时生长，形成直径达2mm大小、半透明的光滑型菌落。志贺菌属中的宋内志贺菌通常出现扁平的粗糙型菌落。

分解葡萄糖，产酸不产气。除宋内志贺菌个别菌株迟缓发酵乳糖(一般需3~4天)外，均不发酵乳糖。故在SS等选择培养基上，呈无色半透明菌落。在克氏双糖管中，斜面不发酵，底层产酸不产气，硫化氢阴性，动力阴性，可同沙门菌、大肠埃希菌等区别。

志贺菌属细菌有O和K两种抗原。O抗原是分类的依据，分群特异抗原和型特异抗原2种，

笔记

借以将志贺菌属分为 4 群和 40 余血清型(包括亚型)。从生化特性看,除 A 群外,B、C、D 群志贺菌均能发酵甘露醇(mannitol);除 D 群外,A、B、C 群志贺菌均无鸟氨酸脱羧酶(表 9-3)。

表 9-3 志贺菌属的分类

菌种	群	型	亚型	甘露醇	鸟氨酸脱羧酶
痢疾志贺菌	A	1~10	8a,8b,8c	−	−
福氏志贺菌	B	1~6,x,y 变型	1a,1b,2a,2b,3a,3b,4a,4b	+	−
鲍氏志贺菌	C	1~18		+	−
宋内志贺菌	D	1		+	+

A 群即痢疾志贺菌(*S. dysenteriae*),有 10 个血清型,其中 8 型尚可分为 3 个亚型,是唯一不能发酵甘露醇的一群志贺菌。

B 群即福氏志贺菌(*S. flexneri*),有 13 个血清型(包括变型和亚型),各型间有交叉反应。

C 群即鲍氏志贺菌(*S. boydii*),有 18 个血清型。

D 群即宋内志贺菌(*S. sonnei*),抗原单一,只有一个血清型,是唯一具有鸟氨酸脱羧酶的一群志贺菌。宋内志贺菌有Ⅰ相和Ⅱ相两个交叉变异相。Ⅰ相呈 S 型菌落,对小鼠有致病力,多自急性期感染患者标本中分离而得。Ⅱ相为 R 型菌落,对小鼠不致病,常从慢性患者或带菌者检出。

志贺菌的抵抗力比其他肠道杆菌弱,加热 60℃ 10 分钟可被杀死。对酸和一般消毒剂敏感。在粪便中,由于其他肠道菌产酸或噬菌体的作用常使本菌在数小时内死亡,故粪便标本应迅速送检。但在污染物品及瓜果、蔬菜上,志贺菌可存活 10~20 天。在适宜的温度下,可在水及食品中繁殖,引起水源或食物型的暴发流行。由于磺胺及抗生素的广泛运用,志贺菌的多重耐药性问题日趋严重,即使在边远地区分离的志贺菌也常见 4~8 种抗药谱,极大影响临床疗效。

二、致病性和免疫性

(一) 致病物质

包括侵袭力和内毒素,有的菌株尚能产生外毒素。

1. 侵袭力 志贺菌侵袭和生长繁殖的靶细胞是回肠末端和结肠部位的黏膜上皮细胞。结构基因编码的蛋白介导了志贺菌黏附、侵入细胞内繁殖及细胞到细胞的传播。这些基因都位于 100~140MD 质粒上,但它们的表达却由染色体基因调节。因此,仅有质粒的存在还不足以保证功能性基因的活性。

志贺菌不是黏附于分化的黏膜细胞,而是先黏附并侵入位于派伊尔淋巴结(Peyer's patch)的 M 细胞。细菌黏附后,通过Ⅲ型分泌系统向上皮细胞和巨噬细胞分泌 4 种蛋白(IpaA、IpaB、IpaC、IpaD),这些蛋白诱导细胞膜凹陷,导致细菌的内吞。志贺菌能溶解吞噬小泡,进入细胞浆内生长繁殖。通过宿主细胞内肌动纤维的重排,推动细菌进入毗邻细胞,开始细胞到细胞的传播。这样,细菌逃避了免疫的清除作用而得到了自身保护,并通过诱导细胞程序性死亡从吞噬中得到了存活。在这过程中,引起白介素 1β 的释放,吸引多形核白细胞到感染组织,致使肠壁的完整性遭到破坏,细菌从而得以到达较深层的上皮细胞,加速了细菌的扩散。坏死的黏膜、死亡的白细胞、细胞碎片、纤维蛋白和血液构成脓血黏液便。

2. 内毒素 志贺菌所有菌株都有强烈的内毒素。内毒素作用于肠黏膜,使其通透性增高,进一步促进对内毒素的吸收,引起发热、神智障碍,甚至中毒性休克等一系列症状。内毒素亦可破坏肠黏膜,促进炎症、溃疡、坏死和出血。内毒素尚能作用于肠壁自主神经系统,使肠功能发生紊乱,肠蠕动失调和痉挛,尤其是直肠括约肌痉挛最明显,因而出现腹痛、里急后重等症状。

笔记

3. 外毒素 A 群志贺菌Ⅰ型和Ⅱ型能产生一种外毒素，成为志贺毒素（shiga toxin，Stx）。其与 EHEC 产生的毒素相同，亦由 1 个 A 亚单位和 5 个 B 亚单位组成。B 亚单位与宿主细胞糖脂受体（Gb3）结合，导入细胞内的 A 亚单位可裂解 60S 核糖体亚单位的 28S rRNA，阻止其与氨酰 tRNA 的结合，致使蛋白质合成中断。毒素作用的基本表现是上皮细胞的损伤，但在小部分患者志贺毒素可介导肾小球内皮细胞的损伤，导致溶血性尿毒综合征（HUS）。

（二）所致疾病

志贺菌引起细菌性痢疾。痢疾志贺菌感染患者病情较重，易引起小儿急性中毒性菌痢和溶血性尿毒综合征以及痢疾的流行。宋内志贺菌多引起轻型感染，福氏志贺菌感染易转变为慢性，病程迁延。我国常见的流行型别主要为福氏志贺菌和宋内志贺菌。

传染源是患者和带菌者。急性期患者排菌量大，每克粪便可有 10^5~10^8 个菌体，传染性强；慢性病例排菌时间长，可长期储存病原体；恢复期患者带菌可达 2~3 周，有的可达数月。传播途径主要通过粪 – 口途径，志贺菌随饮食进入肠道。志愿者研究表明，人类对志贺菌较易感，10~150 个志贺菌即可引起典型的细菌性痢疾感染。常见的感染剂量为 10^3 个细菌，比沙门菌和霍乱弧菌的感染剂量低 2~5 个数量级。

志贺菌感染几乎只局限于肠道，一般不入侵血液。

志贺菌感染有急性和慢性两种类型，典型的急性细菌性痢疾经过 1~3 天的潜伏期后，突然发病。常有发热、腹痛和水样腹泻，约 1 天，腹泻次数增多（每天十多次至数十次），并由水样腹泻转变为脓血黏液便，伴有里急后重（tenesmus）、下腹部疼痛等症状。50% 以上的病例在 2~5 天内，发热和腹泻可自发消退。若及时治疗，预后良好。但在体弱儿童和老人，水分和电解质的丧失，可导致失水、酸中毒，在不少病例中还可引起溶血性尿毒综合征，甚至死亡。痢疾志贺菌引起的细菌性痢疾特别严重，死亡率可高达 20%。

急性中毒性痢疾多见于小儿，各型志贺菌都有可能引起。常无明显的消化道症状而表现为全身中毒症状。原因是内毒素致使微血管痉挛、缺血和缺氧，导致 DIC、多器官功能衰竭和脑水肿。临床主要以高热、休克、中毒性脑病为表现。可迅速发生循环及呼吸衰竭，若抢救不及时，往往造成死亡。

急性细菌性痢疾如治疗不彻底，可造成反复发作，迁延不愈，病程在 2 个月以上者则属慢性。有 10%~20% 的患者可转为慢性。其症状不典型者，易被误诊，而影响治疗。

在少数人，细菌可在结肠形成无症状的定植，成为持续的传染源。

（三）免疫性

志贺菌感染恢复后，大多数人在血液中可产生循环抗体，但此种抗体无保护作用。抗感染免疫主要是消化道黏膜表面的分泌型 IgA（sIgA）。病后免疫期短暂，也不巩固，除因细菌感染只停留在肠壁局部外，其型别多也是原因之一。

三、微生物学检查法

（一）标本

采样应挑取粪便的脓血或黏液部分，避免与尿混合。应在使用抗生素之前采样，标本应新鲜，若不能及时送检，宜将标本保存于 30% 甘油缓冲盐水或专门送检的培养基内。中毒性痢疾患者可取肛拭子。

（二）分离培养与鉴定

标本接种于肠道选择性培养基上，37℃孵育 18~24 小时。挑取无色半透明可疑菌落，作生化反应和血清学试验，以确定其菌群（种）和菌型。

（三）毒力试验

测定志贺菌的侵袭力可用 Sereny 试验。系将受试菌 18~24 小时的固体培养物，以生理盐水

笔记

制成 9×10^9CFU/ml 菌悬液，接种于豚鼠眼结膜囊内。若发生角膜结膜炎，则 Sereny 试验阳性，表明受试菌有侵袭力。志贺菌 ST 的测定，可用 HeLa 细胞或 Vero 细胞，也可用 PCR 技术直接检测其产毒基因 stxA、stxB。

（四）快速诊断法

1. 免疫染色法 将粪便标本与志贺菌抗血清混匀，在光镜下观察有无凝集现象。

2. 免疫荧光菌球法 将标本接种于含有荧光素标记的志贺菌免疫血清液体培养基中，37℃孵育 4~8 小时。若标本中含有相应型别的志贺菌，则生长繁殖后与荧光抗体凝集成小球，在荧光显微镜下易被检出。

3. 协同凝集试验 以志贺菌 IgG 抗体与 Cowan Ⅰ 葡萄球菌结合成为检测试剂，用来检测病人粪便中有无志贺菌可溶性抗原。

4. 胶乳凝集试验 用志贺菌抗血清致敏胶乳，使其与粪便中的志贺菌抗原起凝集反应。也可用志贺菌抗原致敏胶乳，来诊断粪便中有无志贺菌抗体。

5. 分子生物学方法 PCR 技术检测 140MD 的大质粒等。

四、防治原则

由于人类是志贺菌主要的宿主，因此，非特异性预防应以人为中心，努力防治人的感染和传播，其措施包括水、食物和牛奶的卫生学监测，垃圾处理和灭蝇；隔离病人和消毒排泄物；检测发现亚临床病例和带菌者，特别是饮食从业人员；抗生素治疗感染个体。

治疗志贺菌感染的药物颇多，但此菌很易出现多重耐药（multiple drug resistance）菌株。同一菌株可对 5~6 种甚至更多药物耐药，给防治工作带来很大困难。

鉴于志贺菌的免疫防御机制主要是分泌至肠黏膜表面的 sIgA，而 sIgA 需由活菌作用于黏膜局部才能诱发。因此，接种死疫苗防御志贺菌感染的试验已经放弃，现致力于活疫苗的研究。主要分为 3 类，即减毒突变株、用不同载体菌构建的杂交株以及营养缺陷减毒株。例如链霉素依赖株（streptomycin dependent strain，Sd）活疫苗是一种减毒突变株，当环境中存在链霉素时能生长繁殖。将其制成活疫苗给志愿者口服后，因正常人体内不存在链霉素，该 Sd 株不能生长繁殖，但也不立即死亡，且有一定程度的侵袭肠黏膜的能力，因而可激发局部免疫应答，产生保护性 sIgA。Sd 活疫苗的免疫保护具有特异性。目前已能生产多价志贺菌 Sd 活疫苗。现在多重杂交株活疫苗也在研究之中，如将志贺菌的大质粒导入另一弱毒或无毒菌株，形成二价减毒活疫苗。曾被选为研究对象的有宋内志贺菌与伤寒沙门菌 Ty21a 的杂交疫苗等。

第三节 沙门菌属

沙门菌属（*Salmonella*）是一群寄生在人类和动物肠道中，生化反应和抗原结构相关的革兰阴性杆菌。沙门菌属细菌的血清型现已达 2500 多种。根据 DNA 同源性，沙门菌属分两个种，即肠道沙门菌（*S. enterica*）和邦戈沙门菌（*S. bongori*）。肠道沙门菌又分为 6 个亚种，能感染人类的沙门菌血清型，约 1400 多种，主要在第一亚种，即**肠道沙门菌肠道亚种**（*S. enterica subsp. Enterica*）中。长期以来，沙门菌血清型的命名方式犹如拉丁双命名法，由属和种构成，如伤寒沙门菌（*Salmonella typhi*）。正确的命名是肠道沙门菌肠道亚种伤寒血清型（*Salmonella enterica subsp.* enterica serotype Typhi），并可缩写为伤寒血清型沙门菌（*Salmonella* Typhi，属名用斜体字，血清型用罗马字型）。

沙门菌属中少数血清型如**伤寒沙门菌、甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌和希氏沙门菌是人的病原菌**，对人类有直接的致病作用，引起肠热症，对非人类宿主不治病。绝大多数血清型宿主范围广泛，家畜、家禽、野生脊椎动物以及冷血动物、软体动物、环形动物、节肢动物（包括苍蝇）

笔记

等均可带菌，其中部分沙门菌是人兽共患病的病原菌，可引起人类食物中毒或败血症。动物感染大多无症状或为自限性胃肠炎。

一、生物学性状

(一) 形态与染色

革兰阴性杆菌，大小(0.6~1.0)μm ×(2~4)μm。有菌毛。除鸡沙门菌和雏鸭沙门菌等个别例外，都有周身鞭毛。一般无荚膜。均无芽胞。

(二) 基因组特征

沙门菌基因组大小与大肠埃希菌相近，至少包含7个致病岛(*Salmonella* pathogenicity island，SPI)以及大量前噬菌体。其中SPI-1和SPI-2与Ⅲ型分泌系统有关。

(三) 生化反应与培养特性

兼性厌氧菌，营养要求不高，在普通琼脂平板上可生长，在SS选择鉴别培养基上形成中等大小、无色、半透明的S型菌落。

不发酵乳糖或蔗糖。对葡萄糖、麦芽糖和甘露糖发酵，除伤寒沙门菌产酸不产气外，其他沙门菌均产酸产气。沙门菌在克氏双糖管中，斜面不发酵和底层产酸产气(但**伤寒沙门菌产酸不产气**)，硫化氢阳性或阴性，**动力阳性**。可同大肠埃希菌、志贺菌等区别；在此基础上，利用尿素酶试验可同变形杆菌相区别。生化反应对沙门菌属各菌的鉴定有重要意义(表9-4)。

表9-4 主要沙门菌的生化特性

菌名	葡萄糖	乳糖	H_2S	枸橼酸盐	动力
甲型副伤寒沙门菌	⊕	-	-/+	+	+
肖氏沙门菌	⊕	-	+++	+/-	+
鼠伤寒沙门菌	⊕	-	+++	+	+
希氏沙门菌	⊕	-	+	+	+
猪霍乱沙门菌	⊕	-	+/-	+	+
伤寒沙门菌	+	-	-/+	-	+
肠炎沙门菌	⊕	-	+++	-	+

注：+阳性或产酸；⊕产酸产气；-阴性

(四) 抗原构造

沙门菌属细菌主要有O和H两种抗原，少数菌中尚有一种表面抗原，功能上与大肠埃希菌的K抗原类同。一般认为它与毒力(virulence)有关，故称Vi抗原(表9-5)。

表9-5 常见沙门菌的抗原组成

组	菌名	O抗原	H抗原	
			第Ⅰ相	第Ⅱ相
A组	甲型副伤寒沙门菌(*S. Paratyphi A*)	1,2,12	a	-
B组	肖氏沙门菌(*S. Schottmuelleri*)	1,4,5,12	b	1,2
	鼠伤寒沙门菌(*S. Typhimurium*)	1,4,5,12	i	1,2
C组	希氏沙门菌(*S. Hirschfeldii*)	6,7,Vi	c	1,5
	猪霍乱沙门菌(*S. Cholerae-suis*)	6,7	c	1,5
D组	伤寒沙门菌(*S. Typhi*)	9,12,Vi	d	-
	肠炎沙门菌(*S. Enteritidis*)	1,9,12	g,m	-

笔记

沙门菌O抗原为细菌细胞壁脂多糖中特异性多糖部分，以阿拉伯数字顺序排列。每个沙门菌血清型含一种或多种O抗原。凡含有相同抗原组分的归为一个组，引起人类疾病的沙门菌大多数在A~E组。

沙门菌H抗原分第Ⅰ相和第Ⅱ相两种。第Ⅰ相特异性高，以a，b，c……表示。第Ⅱ相特异性低，可为多种沙门菌共有，以1，2，3……表示。一个菌株同时有第Ⅰ相和第Ⅱ相H抗原的称双相菌。每一组沙门菌根据H抗原不同，可进一步将组内沙门菌分为不同菌型。

沙门菌的表面抗原主要是Vi抗原，新分离的伤寒沙门菌和希氏沙门菌（原称丙型副伤寒沙门菌）有Vi抗原。Vi抗原不稳定，经60℃加热、石炭酸处理或传代培养后易消失。Vi抗原存在于菌表面，可阻止O抗原与其相应抗体的凝集反应。

（五）抵抗力

沙门菌对理化因素的抵抗力较差，湿热65℃ 15~30分钟即被杀死。对一般消毒剂敏感，但对某些化学物质如胆盐、煌绿等的耐受性较其他肠道菌强，故用作沙门菌选择培养基的成分。本菌在水中能存活2~3周，粪便中可存活1~2个月，在冰中能存活更长时间。

二、致病性和免疫性

（一）致病物质

沙门菌感染须经口进入足够量的细菌，才能克服机体防护屏障，如肠道正常菌群和胃酸的作用、局部肠道免疫等，只有到达并定植于小肠，才能引发疾病的产生。根据志愿者研究结果，大多血清型，半数感染量在10^5~10^8个之间，伤寒沙门菌可少至10^3个。但在暴发流行时的自然感染中，感染剂量一般都低于10^3个细菌，有时甚至少于100个细菌。

沙门菌有较强的内毒素，并有一定的侵袭力。个别菌型尚能产生肠毒素。

1. 侵袭力 沙门菌有毒株能侵袭小肠黏膜。当细菌被摄入并通过胃后，细菌先侵入小肠末端位于派伊尔淋巴结的M细胞并在其中生长繁殖。M细胞的主要功能是输送外源性抗原至其下方的巨噬细胞供吞噬和清除。有2个Ⅲ型分泌系统［沙门菌致病性岛Ⅰ（*Salmonella* pathogenicity island Ⅰ，SPI-Ⅰ）和Ⅱ（SPI-Ⅱ）］介导细菌最初的对肠黏膜的侵入（SPI-Ⅰ）和随后的全身性疾病（SPI-Ⅱ）。沙门菌通过种特异性的菌毛先与M细胞结合，接着SPI-Ⅰ分泌系统向M细胞中输入沙门菌分泌侵袭蛋白（salmonella-secreted invasion protein，Sips），引发宿主细胞内肌动纤维的重排，诱导细胞膜内陷，导致细菌的内吞。沙门菌在吞噬小泡内生长繁殖，导致宿主细胞死亡，细菌扩散并进入毗邻细胞淋巴组织。

沙门菌还具有一种耐酸应答基因（acid tolerance response，atr），可使细菌在胃和吞噬体的酸性环境下得到保护。氧化酶、超氧化物歧化酶和因子亦可保护细菌不被胞内杀菌因素杀伤。

伤寒沙门菌和希氏沙门菌在宿主体内可以形成Vi抗原，该抗原具有微荚膜功能，能抗御吞噬细胞的吞噬和杀伤，并阻挡抗体、补体等破坏菌体作用。

2. 内毒素 沙门菌死亡后释放出的内毒素，可引起宿主体温升高、白细胞数下降，大剂量时导致中毒症状和休克。这些与内毒素激活补体替代途径产生C3a、C5a等以及诱发免疫细胞分泌TNF-α、IL-1、IFN-γ等细胞因子有关。

3. 肠毒素 个别沙门菌如鼠伤寒沙门菌可产生肠毒素，其性质类似ETEC产生的肠毒素。

（二）所致疾病

传染源为患者和带菌者（恢复期带菌者和健康带菌者），后者在沙门菌感染中的作用更为重要。一是被含菌粪便污染的水源或污染水体中的贝壳类生物常常是造成暴发流行的主要原因；二是带菌动物及其动物产品。带菌动物在其组织（肉）、排泄物和蛋中都有细菌存在。因此，来自于感染动物或被污染或消毒不当的奶和奶制品、肉和肉类制品、冷藏蛋类和蛋粉都可引起沙门菌病。由于喂饲动物所用含有抗生素饲料的增多，使耐药的沙门菌菌株增加，对人造成了更大的潜在性危害。

笔记

人类沙门菌感染有4个类型：

1. 肠热症（enteric fever，typhoid fever） **包括伤寒沙门菌引起的伤寒，以及甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌（原称乙型副伤寒沙门菌）、希氏沙门菌引起的副伤寒。**伤寒和副伤寒的致病机制和临床症状基本相似，只是副伤寒的病情较轻，病程较短。据统计全球每年有2100万例伤寒病例，其中死亡病例为20万例。**沙门菌是胞内寄生菌。**当细菌被摄入并通过胃后，细菌经M细胞被吞噬细胞吞噬，部分细菌经淋巴液到达肠系膜淋巴结大量繁殖，经胸导管进入血流引起第一次菌血症，细菌随血流进入肝、脾、肾、胆囊等器官。患者出现发热、不适、全身疼痛等前驱症状。从病菌经口进入人体到疾病发作的时间与感染剂量，短则3天，长者可达50天，通常潜伏期为2周。病菌在上述器官繁殖后，再次入血造成第二次菌血症。在未经治疗的病例，该时段症状明显，体温先呈阶梯式上升，持续1周，然后高热（39~40℃）保持7~10天，同时出现缓脉，肝脾肿大，全身中毒症状显著，皮肤出现玫瑰疹，外周白细胞明显下降。胆囊中的细菌随胆汁进入肠道，一部分随粪便排出体外，另一部分再次侵入肠壁淋巴组织，使已致敏的组织发生超敏反应，导致局部坏死和溃疡，严重者有出血或肠穿孔等并发症。肾脏中的细菌可随尿排出。以上病变在疾病的第2~3周出现，若无并发症，自3~4周后病情开始好转。

在5%~10%未经治疗的患者，可出现复发。但与初始疾病相比，病程一般较短，病情较轻，但也有严重病例，甚至死亡者。未经治疗的典型伤寒患者死亡率约为20%。

2. 胃肠炎（食物中毒） 是最常见的沙门菌感染，约占70%。由摄入大量（$>10^8$）被鼠伤寒沙门菌、猪霍乱沙门菌、肠炎沙门菌等污染食品引起。常见的食物主要为畜、禽肉类食品，其次为蛋类、奶和奶制品，系动物生前感染或加工处理过程污染所致。细菌对肠黏膜的侵袭以及细菌释放的内毒素可能是主要的致病机制。该病潜伏期为6~24小时。起病急，主要临床症状为发热、恶寒、呕吐、腹痛、水样腹泻，偶有黏液或脓性腹泻。严重者可伴有迅速脱水，导致休克、肾衰竭而死亡。死亡率可达2%，多见于老人、婴儿和体弱者。一般沙门菌胃肠炎多在2~3天自愈。

3. 败血症 病菌以猪霍乱沙门菌、希氏沙门菌、鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌等常见。患者多见于儿童和免疫力低下的成人。经口感染后，病菌早期即进入血液循环。败血症症状严重，有高热、寒战、厌食和贫血等，但肠道症状较少见。在10%的患者，因细菌的血流播散，可出现局部化脓性感染，如脑膜炎、骨髓炎、胆囊炎、心内膜炎、关节炎等。

4. 无症状带菌者 约有1%~5%的伤寒或副伤寒患者，在症状消失后1年仍可在其粪便中检出有相应沙门菌，转变为无症状（健康）带菌者。无症状带菌也可能是感染后唯一的临床表现。这些细菌留在胆囊中，有时也可在尿道中，成为人类伤寒和副伤寒病原菌的储存场所和重要传染源。年龄和性别与无症状带菌关系密切。20岁以下，无症状带菌率常小于1%，而50岁以上者，可达10%以上。女性转变为无症状带菌状态是男性的2倍。其他沙门菌感染，50%患者在5周内停止排菌，90%在感染后9周培养阴性，转变为无症状带菌者很少，不到1%，在人类的感染中不是主要的传染源。

（三）免疫性

肠热症后可获得一定程度的免疫性。恢复后2~3周复发的情况存在，但比首次感染要轻得多。沙门菌侵入宿主之后，主要在细菌内生长繁殖，要彻底杀灭这类胞内寄生菌，**特异性细胞免疫是主要防御机制**。在致病过程中，沙门菌亦可有存在于血流和细胞外的阶段，故特异性体液抗体也有辅助杀菌作用。胃肠炎的恢复与肠道局部生成sIgA有关。

三、微生物学检查法

（一）标本

肠热症随病程的进展，细菌出现的主要部位不同，因而应根据不同的病程采取不同标本。**第1周取外周血，第2周起取粪便，第3周起还可取尿液，从第1周至第3周均可取骨髓液**（图

笔记

9-3)。副伤寒病程较短,因此采样时间可相对提前。胃肠炎取粪便和可疑食物。败血症取血液。胆道带菌者可取十二指肠引流液。

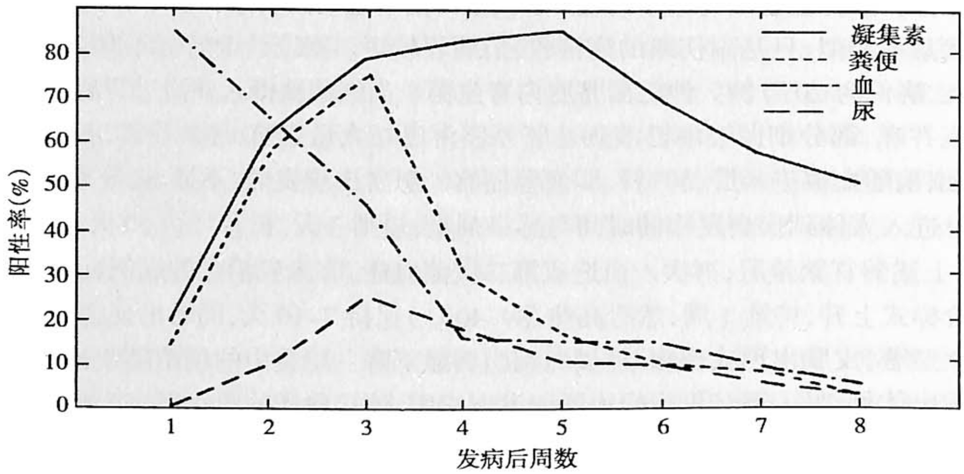


图 9-3 伤寒病人不同病期血、粪、尿中病原菌和特异凝集素检出阳性率

(二) 分离培养和鉴定

血液和骨髓液需要增菌,然后再划种于肠道选择鉴别培养基;粪便和经离心的尿沉淀物等直接接种于 SS(Salmonella-Shigella)选择鉴别培养基或者其他肠道鉴别培养基。37℃孵育 24 小时后,挑取无色半透明的乳糖不发酵菌落接种至双糖或三糖铁培养基。若疑为沙门菌,再继续做系列生化反应,并用沙门菌多价抗血清做玻片凝集试验予以确定。

有学者采用 SPA 协同凝集试验、对流免疫电泳、乳胶凝集试验和 ELISA 法等,来快速早期诊断粪便、血清或尿液中的沙门菌等可溶性抗原。PCR 法等分子生物学技术也可用于沙门菌感染的快速诊断。

在流行病学调查和传染源追踪中,Vi 噬菌体分型也是一种常用方法。标准 Vi 噬菌体有 33 个型,其特异性比血清学分型更为专一。

(三) 血清学诊断

肠热症病程长,因目前使用抗生素普遍,肠热症的症状常不典型,临床标本阳性分离率低,故血清学试验仍有协助诊断的意义。用于肠热症的血清学试验有肥达试验(Widal test)、间接血凝法、EIA 法等,其中肥达试验仍较普及。

肥达试验是用已知伤寒沙门菌菌体 O 抗原和鞭毛 H 抗原,以及引起副伤寒的甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌和希氏沙门菌鞭毛 H 抗原的诊断菌液与受检血清作试管或微孔板定量凝集试验,测定受检血清中有无相应抗体及其效价的试验。

肥达试验结果的解释必须结合临床表现、病程、病史以及地区流行病学情况。

1. 正常值 人们因沙门菌隐形感染或预防接种,血清中可含有一定量的有关抗体,且其效价随地区而有差异。一般是伤寒沙门菌 O 凝集效价小于 1∶80,H 凝集效价小于 1∶160,引起副伤寒的沙门菌 H 凝集效价小于 1∶80。只有当检测结果等于或大于上述相应数值时才有诊断价值。

2. 动态观察 有时单次效价测定不能定论,可在病程中逐周复查。若效价逐次递增或恢复期效价比初次效价≥4 倍者即有诊断意义。

3. O 与 H 抗体的诊断意义 患伤寒或副伤寒后,O 与 H 在体内的消长情况不同。IgM 类 O 抗体出现较早,持续约半年,消退后不易受非伤寒沙门菌等病原体的非特异刺激而重现。IgG 类 H 抗体则出现较晚,持续时间长达数年,消失后易非特异性病原刺激而能短暂地重新出现。因此,O、H 凝集效价均超过正常值,则肠热症的可能性大;如两者均低,患者可能性小;若 O 不高

笔记

H高,有可能是预防接种或非特异性回忆反应;如O高H不高,则可能是感染早期或与伤寒沙门菌O抗原有交叉反应的其他沙门菌(如肠炎沙门菌)感染。

4. 其他 有少数病例,在整个病程中,肥达试验始终在正常范围内。其原因可能由于早期使用抗生素治疗,或患者免疫功能低下等所致。

(四)伤寒带菌者的检出

最可靠的诊断方法是分离出病原菌。分离标本来自可疑带菌者的粪便、胆汁或尿液,但通常分离检出率不高。因此,一般先用血清学方法检测可疑者Vi抗体进行筛选,若效价≥1∶10时,再反复取粪便等进行分离培养,以确定是否为伤寒带菌者。

四、防治原则

做好水源和食品的卫生管理,防止被沙门菌感染的人和动物的粪便污染。感染动物的肉类、蛋等制品要彻底烹饪。

发现、确诊和治疗带菌者。带菌期间不能从事食品行业的工作,并严格遵循卫生注意事项。

伤寒、副伤寒的免疫预防,过去一直沿用皮下接种死疫苗。虽有一定的保护作用,但效果差、不良反应大,不够理想。

目前国际上公认的新一代疫苗是伤寒Vi荚膜多糖疫苗,已有很多资料表明Vi抗原是一种保护性抗原。在法国、墨西哥已获准生产,我国也已正式批准使用。与注射灭活疫苗相比,该疫苗安全,较少不良反应,但免疫预防效果却大致相同;且易于制造保存,运输方便;注射一针即可具有一定的保护力,免疫持久,有效期至少3年。

肠热症的治疗早期(1948年开始)使用的是氯霉素,使原来死亡率达20%,持续几周,且危及生命的严重疾病成为短期的热性疾病,死亡率降低到2%以下。但由于氯霉素对骨髓有毒性作用,同时,20世纪70年代世界各地也广泛出现了质粒介导的氯霉素抗性菌株,因此临床治疗开始使用其他替代药物,主要是功效与氯霉素相当的氨苄西林和复方三甲氧烯胺(co-trimoxazole)。然而自1989年起,多重耐上述药物的菌株在世界很多地方又出现,目前使用的有效药物主要是环丙沙星(ciprofloxacin)。

第四节 其他菌属

一、克雷伯菌属

克雷伯菌属(*Klebsiella*)共有7个种,革兰阴性、球杆状、无鞭毛、多数菌株有菌毛。与其他肠杆菌科的细菌相比,最显著的特点是有较厚的多糖荚膜,在普通培养基上能生长,呈黏液型菌落,以接种环挑之易拉成丝。荚膜与其毒力有关。其中肺炎克雷伯菌肺炎亚种(*K. pneumoniae subsp.pneumonoiae*)俗称肺炎杆菌和催娩克雷伯菌(*K. oxytoca*),是最常见的分离菌种。

肺炎克雷伯菌肺炎亚种的易感者有糖尿病和恶性肿瘤患者、全身麻醉者、抗生素应用者、年老体弱者和婴幼儿等。尤其是新生儿,因免疫力低下有更高的危险性。新生儿的感染可来自产道,也可以是外源性。

肺炎克雷伯菌肺炎亚种常见的医院感染有肺炎、支气管炎、泌尿道和创伤感染。该菌引发的肺炎病情严重,肺部出现广泛出血性、坏死性肺实变。其引起的败血症后果较严重,死亡率较高。

鼻炎克雷伯菌鼻炎亚种(*K. ozaenae subsp. ozaenae*)经常可从萎缩性鼻炎和鼻黏膜的化脓性感染标本中分离到。鼻硬结克雷伯菌硬结亚种(*K. rhinoscleromatis subsp. rhinoscleromatis*)引起呼吸道黏膜、口咽部、鼻和鼻旁窦感染,导致肉芽肿性病变和硬结形成。

笔记

肉芽肿克雷伯菌(*K. granulomatis*)是引起生殖器和腹股沟部位的肉芽肿疾病(Donovanosis)的病原体。该菌在无细胞的培养基中不能生长,已在单核细胞培养系统中分离得到。用 Giemsa 或 Wright 染色法可在组织细胞、多形核白细胞和浆细胞的细胞质中观察到(0.5~1.0)μm×1.5μm 的杆菌,有荚膜。

二、变形杆菌属

变形杆菌属(*Proteus*)为肠道的正常菌群,但在自然界分布也很广,存在于土壤、污水和垃圾中。变形杆菌属有 8 个菌种。其中奇异变形杆菌(*P. mirabilis*)和普通变形杆菌(*P. vulgaris*)2 个菌种与医学关系最为密切。

革兰阴性,大小(0.4~0.6)μm ×(1~3)μm,有明显多形性,无荚膜,有周身鞭毛,运动活泼,有菌毛,营养要求不高。在固体培养基上呈扩散性生长,形成以菌接种部位为中心的厚薄交替、同心圆形的层层波状菌苔,称为迁徙生长现象(swarming growth phenomenon)。若在培养基中加入 0.1%苯酚等则鞭毛生长受抑制,迁徙现象消失。具有尿素酶(urease),能迅速分解尿素,是本菌属的一个重要特征。不发酵乳糖,在 SS 平板上的菌落形态和在双糖管中的生化反应模式与沙门菌属十分相似,可用尿素酶试验加以区别。

普通变形杆菌 X19、X2 和 Xk 菌株的菌体 O 抗原与斑疹伤寒立克次体和恙虫病立克次体有共同抗原,故可用 OX19、OX2 和 OXk 代替立克次体作为抗原与相应患者血清进行交叉凝集反应。此为外斐试验(Weil-Felix test),以辅助诊断立克次体病。

奇异变形杆菌和普通变形杆菌引起人的原发和继发感染,只有离开肠道后才能引起,是仅次于大肠埃希菌的泌尿道感染的主要病原菌。其尿素酶可分解尿素产氨,使尿液 pH 增高,以利于变形杆菌的生长。碱性环境亦可促进肾结石和膀胱结石的形成。同时,高碱性尿液对尿道上皮也有毒性作用。变形杆菌高度的运动能力与其对泌尿系统的侵袭有关。此外,有的变形杆菌菌株尚可引起脑膜炎、腹膜炎、败血症和食物中毒等疾病,亦是医院感染的重要病原菌。

三、肠杆菌属

肠杆菌属(*Enterobacter*)有 14 个种,包括产气肠杆菌(*E. aerogenes*)、阴沟肠杆菌(*E. cloacae*)、杰高维肠杆菌(*E. gergoviae*)、阪崎肠杆菌(*E. sakazakii*)、河生肠杆菌(*E. amnigenus*)、中间肠杆菌(*E. intermedius*)、阿氏肠杆菌(*E. asburiae*)、致癌肠杆菌(*E. cancerogenus*)、溶解肠杆菌(*E. dissolvens*)和超压肠杆菌(*E. nimipressuralis*)等。革兰阴性粗短杆菌,周身鞭毛,无芽胞,有的菌株有荚膜。营养要求不高,在普通琼脂平板上形成湿润、灰白或黄色的黏液状大菌落。发酵乳糖,不产生硫化氢。

肠杆菌属是肠杆菌科最常见的环境菌群,常见于土壤和水中。不是肠道的常居菌群,偶尔可从粪便和呼吸道中分离到。产气肠杆菌和阴沟肠杆菌常可从临床标本中分离到,为条件致病菌,与泌尿道、呼吸道和伤口感染有关,偶引起败血症和脑膜炎。杰高维肠杆菌可引起泌尿道感染,从呼吸道和血液中亦曾分离出。坂崎肠杆菌引起的新生儿脑膜炎和败血症,死亡率可高达 75% 左右。阿氏肠杆菌亦曾从血液、粪便、尿液、呼吸道分泌液和伤口渗出液等标本中分离到。肠杆菌属细菌的致病物质有Ⅰ型和Ⅲ型菌毛,大多数菌株还表达产气菌素介导的铁摄取系统、溶菌素等。阴沟肠杆菌的外膜蛋白 OmpX 能减少孔蛋白的产生,使其对 β-内酰胺抗生素的敏感性下降以及发挥对宿主的侵袭作用。

四、沙雷菌属

沙雷菌属(*Serratia*)有 13 个种,包括黏质沙雷菌黏质亚种(*S. marcescens subsp. marcescens*)、深红沙雷菌(*S. rubidaea*)、臭味沙雷菌(*S. oderifera*)、普城沙雷菌(*S. plymuthica*)、无花果沙雷菌

笔记

(*S. ficaria*)、虫媒沙雷菌(*S. etomophila*)以及液化沙雷菌(*S. liquefaciens*)等。革兰阴性小杆菌,周身鞭毛,一般不形成荚膜,但在通气好、低氮和磷的培养基上可形成荚膜。无芽胞。室温下可以生长,营养要求不高。菌落不透明,白色、红色或粉红色。沙雷菌可自土壤、水、偶从人的粪便中分离到。

黏质沙雷菌黏质亚种可在住院患者中引起感染,如泌尿道和呼吸道感染、脑膜炎、败血症、心内膜炎以及外科术后感染;此外,黏质沙雷菌是细菌中最小的,常用于检查滤菌器的除菌效果。其他沙雷菌可通过输液直接进入血流,引起败血症。沙雷菌的主要致病机制有菌毛血凝素,肠杆菌素介导的和产气菌素介导的铁摄取系统,胞外酶和志贺毒素等。

五、枸橼酸杆菌属

枸橼酸杆菌属(*Citrobacter*)有12个种,包括弗劳地枸橼酸杆菌(*C. freundii*)、异型枸橼酸杆菌(*C. diversus*)、柯塞枸橼酸杆菌(*C. koseri*)、布拉克枸橼酸杆菌(*C. brsskii*)、杨格枸橼酸杆菌(*C. youngae*)、沃克曼枸橼酸杆菌(*C. werkmanii*)和无丙二酸盐枸橼酸杆菌(*C. amalonaticus*)等。革兰阴性杆菌,有周身鞭毛,无芽胞,能形成荚膜。营养要求不高,菌落灰白色、湿润、隆起、边缘整齐。发酵乳糖,产生硫化氢。其O型抗原与沙门菌和大肠埃希菌常有交叉。

枸橼酸杆菌广泛存在于自然界,是人和动物肠道的正常菌群,也是机会致病菌。弗劳地枸橼酸杆菌引起胃肠道感染,德国报道有的菌株产生Vero毒素,曾暴发出血性肠炎流行,并有溶血性尿毒综合征(hemolytic-uremic syndrome,HUS)并发。柯塞枸橼酸杆菌可引起新生儿脑膜炎和脑脓肿。无丙二酸盐枸橼酸杆菌偶可自粪便标本中分离到。有时枸橼酸杆菌与产黑色素类杆菌等革兰阴性无芽胞厌氧菌合并感染。

六、摩根菌属

摩根菌属(*Morganella*)有2个亚种,摩根摩根菌摩根亚种(*M. morganii subsp. morganii*)和摩根摩根菌西伯尼亚种(*M. morganii subsp. siboniii*)。摩根菌形态、染色和生化反应特征与变形杆菌相似,但无迁徙现象。以枸橼酸盐阴性、硫化氢阴性和鸟氨酸脱羧酶阳性为其特征。摩根摩根菌摩根亚种可致住院患者和免疫低下患者泌尿道感染和伤口感染,有时可引起腹泻。

(郭晓奎)

笔记

第十章 弧　菌　属

弧菌属（*Vibrio*）细菌是一大群菌体短小，弯曲成弧形的革兰阴性菌。该属细菌广泛分布于自然界，以水表面最多。根据目前的分类方法，本菌属有 56 个种，其中至少有 12 个种与人类感染有关，尤以霍乱弧菌，副溶血性弧菌最为重要。

第一节　霍 乱 弧 菌

霍乱弧菌（*Vibrio cholerae*）是引起烈性传染病霍乱的病原体，两千多年前已有记载。自 1817 年以来，已发生过 7 次世界性霍乱大流行，前 6 次均由**霍乱弧菌古典生物型**引起，1961 年开始的第 7 次大流行由霍乱弧菌 El Tor 生物型引起。1992 年一个新的流行株 O139（Bengal）在沿孟加拉湾的印度和孟加拉一些城市出现，并很快传遍亚洲，这是首次由**非 O1 群霍乱弧菌**引起的流行。

一、生物学性状

（一）形态与染色

霍乱弧菌菌体大小为(0.5~0.8)μm × (1.5~3)μm。从患者体内新分离出的细菌形态典型，呈弧形或逗点状（图 10-1）。但经人工培养后，细菌常呈杆状而不易与肠道杆菌区别。革兰染色阴性。有菌毛，无芽胞，有些菌株（包括 O139）有荚膜，**在菌体一端有一根单鞭毛，运动非常活泼。取病人米泔水样粪便或培养物作悬滴观察，细菌呈穿梭样或流星状运动**。粪便直接涂片染色镜检，可见其相互**排列如"鱼群"状**。

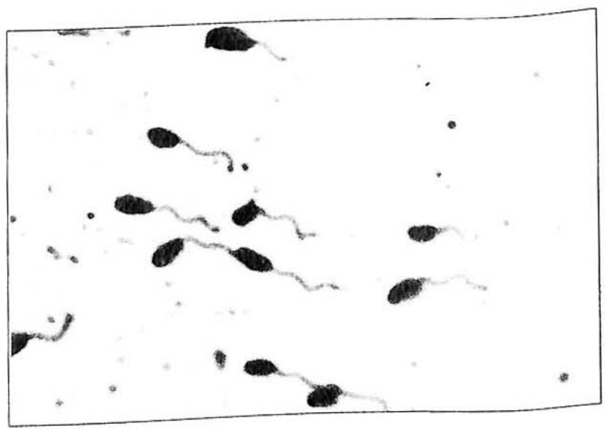


图 10-1　霍乱弧菌（鞭毛染色）

（二）基因组特征

霍乱弧菌基因组由 2 条环状染色体组成。大染色体约 2.91Mb，G+C 占 46.9%；小染色体约 1.072Mb，G+C 占 47.7%。总共有 3885 个 ORF。霍乱毒素基因位于大染色体上整合的温和丝状噬菌体 CTXΦ 基因组内。

（三）培养特性与生化反应

兼性厌氧，在氧气充分的条件下生长更好，营养要求不高。生长繁殖的温度范围广（18~37℃），故可在外环境中生存。**耐碱不耐酸，在** pH 8.8~9.0 的碱性蛋白胨水或碱性琼脂平板上生长良好，因其他细菌在此 pH 中不易生长，故初次分离霍乱弧菌常用碱性蛋白胨水增菌。霍乱弧菌可在无盐环境中生长，而其他致病性弧菌则不能。霍乱弧菌为过氧化氢酶阳性，氧化酶阳性，能发酵很多常见的单糖、双糖和醇糖，如葡萄糖、蔗糖和甘露醇，产酸不产气；不分解阿拉伯糖；能还原硝酸盐、吲哚反应阳性。在碱性琼脂平板上培养 24 小时后，形成圆形、透明或半透明 S 形、无色、扁平菌落。霍乱弧菌在 TCBS（thiosulfate-citrate-bile-sucrose）培养基上生长良好，菌落呈黄色，培养基呈暗绿色。

（四）抗原构造与分型

笔记

霍乱弧菌有耐热的 O 抗原和不耐热的 H 抗原。H 抗原无特异性。**根据 O 抗原不同**，现已

有 155 个血清群，**其中 O1 群、O139 群引起霍乱**，其余的血清群分布于地面水中，可引起人类肠胃炎等疾病，但从未引起霍乱的流行。

O1 群霍乱弧菌根据其菌体抗原由 **3 种抗原因子** A、B、C 组成，又可分为 3 个血清型：小川型（Ogawa）、稻叶型（Inaba）、和彦岛型（Hikojima）（表 10-1）。

表 10-1 霍乱弧菌 O1 群血清型

血清型（抗原组分）	O1 多克隆抗体	O1 单克隆抗体 A	B	C	出现频率	造成流行
小川型（AB）	+	+	+	−	常见	是
稻叶型（AC）	+	+	−	+	常见	是
彦岛型（ABC）	+	+	+	+	极少见	未知

注："+" 凝集；"−" 不凝集

根据表型差异，**O1 群霍乱弧菌的每一个血清型还可分为 2 个生物型，即古典生物型**（classical biotype）和 **El Tor 生物型**（EL Tor biotype，因在埃及西奈半岛 El Tor 检疫站首次分离出而命名）。古典生物型不溶解羊红细胞，不凝集鸡红细胞，对 50U 的多粘菌素敏感，可被第Ⅳ群噬菌体裂解，而 El Tor 生物型则完全相反。

O139 群在抗原性方面与 O1 群之间无交叉，序列分析发现 O139 群失去了 O1 群的 O 抗原基因，出现了一个约 36kb 的新基因，编码与 O1 群不同的脂多糖抗原和荚膜多糖抗原，但与 O22 和 O155 等群可产生抗原性交叉。在遗传性方面，如核糖型、限制性酶切电泳图谱、外膜蛋白、毒性基因等则与 O1 群的古典生物型和 El Tor 生物型流行株相似。

（五）抵抗力

本菌对热和一般消毒剂敏感，100℃煮沸 1~2 分钟或 55℃作用 10 分钟即死亡；不耐酸，在正常胃酸中仅能存活 4 分钟。El Tor 生物型和其他非 O1 群霍乱弧菌在外环境中的生存力较古典型为强，在河水、井水及海水中可存活 1~3 周，有时还可越冬。霍乱弧菌对氯敏感，0.5ppm 氯 15 分钟能杀灭。以 1 : 4 比例加漂白粉处理病人排泄物或呕吐物，经 1 小时可达到消毒目的。

二、致病性与免疫性

（一）致病物质

霍乱弧菌的致病物质涉及染色体上多个基因，它们主要包括由 ToxR 蛋白调控的 *ctxA*、*ctxB*、*zot*、*cep*、*ace*、*tcp* 等基因，另外还有两个不受 ToxR 蛋白调控的毒力因子基因 *hly* A 和 *hap*。

（1）**霍乱肠菌素**（cholera toxin）：是目前已知的致泻毒素中最为强烈的毒素，是肠毒素的典型代表。由一个 A 亚单位（cholera toxin A，分子量为 27.2kDa）和 5 个相同的 B 亚单位（每个亚单位分子量为 11.7kDa）构成的热不稳定性多聚体蛋白，分别由前噬菌体携带的结构基因 *ctxA* 和 *ctxB* 编码。霍乱弧菌古典生物型染色体上广泛散布着以 2 拷贝 *ctx* 为一组的 CTX 单元。El Tor 生物型染色体上 CTX 则为多拷贝随机分布。B 亚单位可与小肠黏膜上皮细胞 GMI 神经节苷脂受体结合，介导 A 亚单位进入细胞，A 亚单位在发挥毒性作用前须经蛋白酶作用裂解为 A1 和 A2 两条多肽。A1 作为腺苷二磷酸核糖基转移酶可使 NAD（辅酶 I）上的腺苷二磷酸核糖转移到 G 蛋白上，称为 Gs，Gs 的活化可使细胞内 cAMP 水平升高，主动分泌 Na^+、K^+、HCO_3^- 和水，导致严重的腹泻与呕吐。

另外，由 *zot* 编码的紧密连接毒素（zonula occludens toxin）能松解小肠黏膜细胞的紧密连接，增加黏膜的渗透性；*cep* 编码的副霍乱肠毒素增加肠液的分泌，使得缺少霍乱肠毒素的 O1 群霍乱弧菌仍能出现腹泻。

（2）鞭毛、菌毛及其他毒力因子：霍乱弧菌活泼的鞭毛运动有助于细菌穿过肠黏膜表面黏液

笔记

层而接近肠壁上皮细胞。细菌的普通菌毛是细菌定居于小肠所必需的因子,只有黏附定居后方可致病。与此相关的基因有 *acf* 和 *tcp*A。*acf*(accessory colonization factor)编码黏附素;*tcp*A(toxin coregulated pilus A)编码菌毛蛋白中一个分子量为 20.5kDa 的重要亚单位。实验发现若 *tcp* 失活,变异株即失去定居功能和致泻特性。其他毒力因子还有 *hly*A(hemolytic-cytolytic A)基因编码的具有溶血 - 溶细胞的蛋白;*hap*(hemagglutimin/protease)基因编码的有助于细菌从死亡细胞上解离的血凝素 / 蛋白酶。O139 群除具有上述 O1 群的致病物质和相关基因外,还存在多糖荚膜和特殊 LPS 毒性决定簇,其功能是抵抗血清中杀菌物质和能黏附到小肠黏膜上,不表达 LPS 决定簇和荚膜的 *Tnpho*A 突变株则可被血清抑制活性。

(二) 所致疾病

引起烈性肠道传染病**霍乱**,为我国的**甲类**法定传染病。在自然情况下,人类是霍乱弧菌的唯一易感者。在地方性流行区,除患者外,无症状感染者也是重要传染源。传播途径主要是通过污染的水源或食物经口摄入,人与人之间的直接传播不常见。在正常胃酸条件下,需要进入大量的细菌(10^8 个)方能引起感染,但当胃酸低时,感染剂量可减少到 10^3~10^5 个细菌。病菌到达小肠后,黏附于肠黏膜表面并迅速繁殖,不侵入肠上皮细胞和肠腺,细菌在繁殖过程中产生肠毒素而致病。**O1 群霍乱弧菌感染可从无症状或轻型腹泻到严重的致死性腹泻**,霍乱弧菌古典生物型所致疾病较 El Tor 生物型严重。典型病例一般在吞食细菌后 2~3 天突然出现剧烈腹泻和呕吐,**在疾病最严重时,每小时失水量可高达 1L,排出如米泔水样腹泻物**。由于大量水分和电解质丧失而导致失水,代谢性酸中毒,低碱血症和低容量性休克及心律不齐和肾衰竭,如未经治疗处理,患者死亡率高达 60%,但若及时给患者补充液体及电解质,死亡率可小于 1%。O139 群霍乱弧菌感染比 O1 群严重,表现为严重脱水和高死亡率,且成人病例大于 70%,而 O1 群霍乱弧菌流行高峰期,儿童病例约占 60%。

病愈后一些患者可短期带菌,一般不超过 2 周,个别 El Tor 型病例病后可带菌长达数月或数年之久。病菌主要存在于胆囊中。

(三) 免疫性

对 O1 群霍乱弧菌感染的研究和历次霍乱流行的观察,表明**感染霍乱弧菌后,机体可获得牢固免疫力,再感染少见**。患者发病数月后,血液中和肠腔中可出现保护性的抗肠毒素抗体及抗菌抗体,抗肠毒素抗体主要针对霍乱毒素 B 亚单位,抗菌抗体主要针对 O 抗原。肠腔中的 sIgA 可凝集黏膜表面的病菌,使其失去动力;可与菌毛等黏附因子结合,阻止霍乱弧菌黏附至肠黏膜上皮细胞;可与霍乱肠毒素 B 亚单位结合,阻断肠毒素与小肠上皮细胞受体作用。**霍乱弧菌引起的肠道局部黏膜免疫是霍乱保护性免疫的基础**。

感染 O139 群的病人大多为成年人,**表明以前感染 O1 群获得的免疫对 O139 群感染无交叉保护作用**。O139 群感染后的免疫应答与 O1 群基本一致。家兔肠道结扎实验和小鼠攻击实验证明,O139 群的保护性免疫以针对脂多糖和荚膜多糖的抗菌免疫为主,抗毒素免疫为辅。O1 群的脂多糖 O 抗原与 O139 群存在显著差异,且还缺少荚膜多糖表面抗原,故其引起的免疫不能交叉保护 O139 群的感染。

三、微生物学检查法

霍乱是烈性传染病,对首例患者的病原学诊断应快速、准确,并及时做出疫情报告。在流行期间,典型患者的诊断并不困难;但散在的、轻型病例应与其他原因的腹泻相区别。

(一) 标本

患者粪便,肛拭;流行病学调查还包括水样。霍乱弧菌不耐酸和干燥。为避免因粪便发酵产酸而使病菌灭活,标本应及时培养或放入 Cary-Blair 保存液中运输;肠道病原菌常用的甘油盐水缓冲保存液不适宜。

笔记

(二) 直接镜检

革兰染色阴性弧菌，**悬滴法观察细菌呈穿梭样运动有助于诊断。**

(三) 分离培养

标本先接种至碱性蛋白胨水增菌，37℃孵育 6~8 小时后直接镜检并作分离培养。

目前常用的选择培养基为 TCBS，该培养基含有硫代硫酸盐、枸橼酸盐、胆盐及蔗糖，霍乱弧菌因分解蔗糖呈黄色菌落。挑选可疑菌落进行生化反应及与 O1 群多价和单价血清作玻片凝集反应。目前还需与 O139 群抗血清做凝集反应。其他分离培养基还有碱性平板、血平板和牛磺胆酸亚碲酸盐明胶琼脂（TTGA 培养基）等。

四、防治原则

改善社区环境，加强水源管理；培养良好个人卫生习惯，不生食贝壳类海产品等是预防霍乱弧菌感染和流行的重要措施。

疫苗预防长期以来使用 O1 群霍乱弧菌死菌苗肌内注射，虽可增强人群的特异性免疫力，但保护力仅为 50% 左右，且血清抗体持续时间较短，仅为 3~6 个月。在认识到肠道局部免疫对霍乱预防起主要作用后，目前霍乱疫苗预防的重点已转至研制口服菌苗的方向上，包括 B 亚单位 – 全菌灭活口服疫苗、基因工程减毒活菌苗（用基因工程技术去除 O1 群霍乱弧菌野生株 DNA 中大部分毒力基因的活疫苗）、带有霍乱弧菌几个主要保护性抗原的基因工程疫苗等。其中前两种疫苗已进行过大规模人群试验，对其有效保护率和保护时间正在进行评估，且某些国家已获准使用。O139 尚无预防性疫苗，候选菌苗正在研制中，思路是制成包括预防 O1 群和 O139 群霍乱弧菌感染的二价菌苗。

及时补充液体和电解质，预防大量失水导致的低血容量性休克和酸中毒是治疗霍乱的关键；抗生素的使用可减少外毒素的产生，加速细菌的清除，用于霍乱的抗菌药物有四环素、多西环素、呋喃唑酮、氯霉素和复方 SMZ–TMP 等。但带有多重耐药质粒的菌株在增加；且 O139 群的耐药性强于 O1 群，给治疗带来一定困难。

第二节 副溶血性弧菌

副溶血性弧菌（*V. parahaemolyticus*）于 1950 年从日本一次暴发性食物中毒中分离发现。该菌存在于近海的海水、海底沉积物和鱼类、贝壳等海产品中。根据菌体 O 抗原不同，现已有 13 个血清群。主要引起**食物中毒**，尤以日本、东南亚、美国及我国台北地区多见，也是我国大陆沿海地区食物中毒最常见的一种病原菌。

一、生物学特性

该菌与霍乱弧菌的一个显著差别是嗜盐（halophilic），在培养基中以含 35g/L NaCl 最为适宜，无盐则不能生长，但当 NaCl 浓度高于 80g/L 时也不能生长。在盐浓度不适宜的培养基中，细菌呈长杆状或球杆状等多形态。不耐热，90℃ 1 分钟即被杀死；不耐酸，1% 醋酸或 50% 食醋中 1 分钟死亡。

副溶血性弧菌在普通血平板（含羊、兔或马等血液）上不溶血或只产生 α 溶血。但在特定条件下，某些菌株在含高盐（7%）的人 O 型血或兔血及以 D- 甘露醇作为碳源的我妻（Wagatsuma）琼脂平板上可产生 β 溶血，称为**神奈川现象**（Kanagawa phenomenon，KP）。KP^+ 菌株为致病性菌株。

二、致 病 性

引起食物中毒的确切致病机制尚待阐明。**KP^+ 菌株为致病性菌株基本肯定**。现已从 KP^+

笔记

菌株分离出两种致病因子,其一为**耐热直接溶血素**(thermostable direct hemolysin,TDH),动物实验表明具有细胞毒和心脏毒两种作用。其基因为双拷贝(*tdh*1 和 *tdh*2),KP 实验中的溶血现象即由 *tdh*2 位点决定。最近的研究还表明,*tdh* 基因家族也广泛存在于人类致病性弧菌中,如大多数霍利斯弧菌(*V. hollisae*)菌株,某些拟态弧菌(*V. mimicus*)菌株中有 *tdh* 基因,非 O1 群霍乱弧菌中也存在同源性约为 93%~96% 的 *tdh* 相关基因,提示该基因与致病关系密切。另一个致病因子为**耐热相关溶血素**(thermostable related hemolysin,TRH)生物学功能与 TDH 相似,其基因与 *tdh* 同源性为 68%。

其他致病物质可能还包括黏附素和黏液素酶。

该菌引起的食物中毒经烹饪不当的海产品或盐腌制品传播。常见的为海蜇、海鱼、海虾及各类贝类,**因食物容器或砧板**生熟不分污染本菌后,也可发生**食物中毒**。该病常年均可发生,潜伏期 5~72 小时,平均 24 小时,可从自限性腹泻至中度霍乱样病症,有腹痛、腹泻、呕吐和低热,粪便多为水样,少数为血水样,恢复较快,病后免疫力不强,可重复感染。

三、诊断与防治

标本采取患者粪便、肛拭或剩余食物,直接分离培养于 SS 琼脂平板或嗜盐菌选择平板。如出现可疑菌落,进一步作嗜盐性试验与生化反应,最后用诊断血清进行鉴定。最近已发展了基因探针杂交及 PCR 快速诊断法,可直接从原始食物标本或腹泻标本中检测耐热毒素基因。

治疗可用抗菌药物,如庆大霉素或复方 SMZ-TMP,严重病例需输液和补充电解质。

(郭晓奎)

笔记

第十一章　螺杆菌属

螺杆菌属是一个新的菌属，其成员之间有很多类似的特征。1982年澳大利亚学者Marshall和Warren首次从人胃黏膜组织中分离出**幽门螺杆菌**(*Helicobacter pylori*,Hp)。1989年又根据此菌的RNA序列、细胞脂肪酸谱、生长特征及其他分类上的特征，认为此菌不应属于现有的任何菌属，而正式划分出一个新的菌属——**螺杆菌属**(*Helicobacter*)，共有23个种。幽门螺杆菌的发现成为胃肠疾病研究史上的里程碑式事件，并由此激发20多年全球范围内的研究热潮。除幽门螺杆菌外，从雪貂胃内分离到的螺旋形细菌被正式命名为*H. mustelae*，是该菌属的第二位成员，后又从平顶猴胃内分离到*H. nemi strinae*，从猫胃内分离到*H. felis*。现在已从人和其他动物的胃内鉴定出10余种螺杆菌。除胃内有螺杆菌外，在人和其他哺乳动物及鸟类的肠肝内也有螺杆菌存在，目前已报道达20种，这些**肝肠螺杆菌**(Enterohepatic Helicobacter species，EHS)具有与胃内螺杆菌相类似的形态学和生理、生化特征。肝肠螺杆菌与人类及某些动物的**胃肠炎**、**肝炎**及**肝癌**的发生相关，已引起国际学者的极大关注。

幽门螺杆菌

幽门螺杆菌是螺杆菌属的代表菌种。它与**胃窦炎**、**十二指肠溃疡**、**胃溃疡**，**胃腺癌和胃黏膜相关B细胞淋巴瘤**(**MALT**)的发生关系密切。感染胃黏膜的其他种类螺杆菌少见。

1979年，澳大利亚珀斯皇家医院42岁的研究人员Warren在一份胃黏膜活体标本中，意外地发现无数细菌紧黏着胃上皮。1981年该院消化科的年轻医生Marshall加入该菌的相关试验，一年后他成功地从胃活检组织中分离培养出幽门螺杆菌，从而引起全球极大的轰动。各国科研人员从此对幽门螺杆菌导致胃炎、胃溃疡与十二指肠溃疡等疾病的致病机制进行大量研究，并取得可喜的结果。为表彰Marshall和Warren发现了导致人类罹患胃炎和消化性溃疡的细菌——幽门螺杆菌所作出的突出贡献，2005年10月3日瑞典卡罗林斯卡医学院宣布，将2005年诺贝尔生理学或医学奖授予澳大利亚学者巴里·马歇尔(Barry Marshall)和罗宾·沃伦(Robin Warren)。

一、生物学性状

1. 形态与染色　幽门螺杆菌是一种单极、多鞭毛、末端钝圆、螺旋形弯曲的细菌，有1~2个微小弯曲，菌体长约2~4μm，宽约0.5~1.0μm，只有一条环状染色体(图11-1)，革兰染色阴性(图11-2)。1997年底已完成对幽门螺杆菌基因组全序列测定，其中约2/3的基因可以在基因数据库

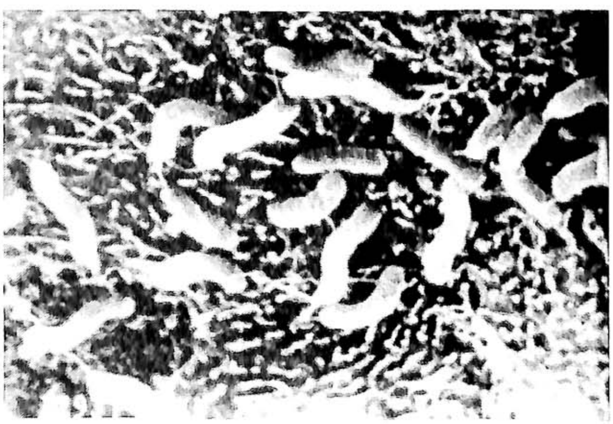


图11-1　幽门螺杆菌电镜扫描图



图11-2　幽门螺杆菌革兰染色

笔记

查到功能基因，并可推测其可能的生物学功能，1/5 的基因功能未知，1/4 的基因为幽门螺杆菌特有基因。细菌常排列成 S 形或海鸥状，革兰染色阴性。电子显微镜下菌体一端或两端可有多根带鞘鞭毛，运动活泼，通常在黏液层下面，黏膜上皮表面，在胃小凹内及腺腔内，呈不均匀的集团状分布。

2. 培养特性 生长时需 5%~10% 的 CO_2 和 5% 的 O_2，营养要求高，培养时需动物血清或血液，最适生长温度为 37℃，另外还需一定湿度（相对湿度 98%），培养 3~6 天可见针尖状无色透明菌落。传代培养后可变成杆状或圆球体形。

3. 生化反应 生化反应不活泼，不分解糖类。过氧化氢酶和氧化酶阳性，**尿素酶丰富，可迅速分解尿素释放氨，是鉴定该菌的主要依据之一**。另外，具有碱性磷酸酶、DNA 酶、亮氨酰肽酶等也能与其他弯曲菌相区别。

二、致病性与免疫性

幽门螺杆菌是一种专性寄生于人胃黏膜上的革兰阴性细菌，人群中的感染非常普遍。在发展中国家，10 岁前儿童的感染率已达 70%~90%。但在发达国家幽门螺杆菌在胃中的定植发展相对较晚，成年人的感染率为 45%。而在胃炎、胃溃疡和十二指肠溃疡患者的胃黏膜中，本菌的检出率可高达 80%~100%。**幽门螺杆菌的传染源主要是人；传播途径主要是粪 - 口途径**。

临床证据表明，幽门螺杆菌肯定是慢性胃炎的病原因子，而且现在一般都接受幽门螺杆菌是大多数胃炎、十二指肠溃疡的病因。慢性胃炎是胃腺癌的危险因素。因此，幽门螺杆菌感染与胃窦和胃体部位的胃腺癌关系密切。此外，幽门螺杆菌还和胃黏膜相关 B 细胞淋巴瘤密切关联，针对该菌的治疗可使淋巴瘤得到缓解。

幽门螺杆菌致病物质和致病机制目前尚不清楚。该菌生长于胃黏液深层，胃黏膜表面，多在胃窦部以胃小凹、上皮皱褶的内折及腺腔内为多，这就为其创造了微需氧环境，并免遭酸性胃液的伤害，而能繁衍。幽门螺杆菌能在其他细菌很难生存的胃中生长繁衍。它具有不寻常的活动能力，可游移至胃黏膜表面，也可由十二指肠内胆总管的开口处逆行到肝脏。它特有的黏附性，使人体组织很难清除。

幽门螺杆菌导致的疾病特征包括**胃部的炎症，胃酸产生的改变和组织的破坏**。这些病理的变化可能是多种因素，如细菌的鞭毛、黏附素、尿素酶、蛋白酶、空泡毒素（VacA）和细胞毒素相关蛋白（CagA）等协同作用的结果。该菌对胃酸敏感，因此在胃中定植、生长和致病的前提是克服胃酸的杀菌作用。幽门螺杆菌能产生一种酸抑制蛋白，可封闭胃酸的产生；其产生的大量**尿素酶**有助于分解食物中的尿素产生氨，而产生的氨可包绕细菌本身，从而与具有杀菌作用的酸性胃液隔绝，并中和胃酸，形成碱性微环境，缓解局部胃酸的杀菌作用。细菌尿素酶的活性可被与尿素酶共表达在细胞表面的热休克蛋白 B（HspB）所加强。幽门螺杆菌活泼的鞭毛运动有助于细菌穿过胃黏膜表面黏液层而吸附到上皮细胞，也可蔓延到胃腺体，但此时黏膜上就难见细菌。局部组织的损伤与尿素酶的代谢产物、黏液酶、磷脂酶及**空泡毒素**的活性有关，毒素与脂多糖可导致黏膜细胞的损伤，尿素酶分解尿素产生的氨也可直接破坏细胞。而炎症反应则是空泡毒素，尿素酶和细菌脂多糖共同刺激的结果。在胃黏膜的上皮细胞和固有层内可见多形核细胞和单核细胞；黏膜细胞常发生空泡样变；常见上皮细胞萎缩，胃腺萎缩也可能发生。细菌通过产生超氧化物歧化酶，过氧化氢酶等保护自己免受吞噬过程及胞内因子的杀伤作用。此外，幽门螺杆菌的感染可刺激机体产生白细胞介素 -8、血小板活化因子，再引起胃酸的大量分泌以及造成胃上皮细胞程序性死亡。

急性炎症可引起患者恶心和上消化道疼痛，呕吐和发热也时有发生，急性症状一般持续 1~2 周。尽管有慢性活动性胃炎存在，但大多数感染者无症状，且内镜显示胃黏膜是正常的。幽门螺杆菌一旦定植，由其导致的炎症就可持续数年或数十年，甚至一生。大约 90% 的病人患十二

笔记

指肠溃疡，50%~80% 是胃溃疡。

幽门螺杆菌的感染可刺激机体产生 IgM、IgG 和 IgA 型抗体，但是否对机体有保护作用尚不清楚。

三、微生物学检查法

1. **直接镜检** 胃镜下取胃黏膜活标本，进行组织学检查，或细菌培养。

2. **检测尿素酶活性** 可直接用临床活检标本或分离培养物。一般 2 小时内可检测到尿素酶的碱性副产物。临床活检标本的敏感性达 75%~95%，特异性为 100%。也可采用 ^{13}C 呼气检测，原理是幽门螺杆菌能产生丰富的尿素酶，尿素酶能将尿素分解为氨和二氧化碳，而人体内缺乏尿素酶。正因为如此，未受幽门螺杆菌感染的人，其体内的尿素是不会被分解为氨和二氧化碳的。方法是患者口服标有放射性核素 ^{13}C 或 ^{14}C 的尿素，如果感染了幽门螺杆菌，该菌的尿素酶分解尿素产生标有放射性核素的 CO_2，后者在患者呼出的气体中大量存在，可通过仪器检测出来。由于此实验具有高度敏感性和特异性，可作为检测幽门螺杆菌感染的可靠方法。

3. **分离培养** 可将活体组织直接或磨碎后接种于 Skirrow 鉴别培养基，经 2~7 天培养后再进行鉴定。分离培养的敏感性决定于多种因素，如活检标本的采集部位、培养基抗生素的选择及含量和环境因素等。

4. **血清学检测** 收集血清，采用 ELISA 法检测幽门螺杆菌或其产物的特异性抗体，目前该项在国外已经作为患有消化不良患者的常规检查，但对老年人或正在接受治疗的患者采用此方法排除幽门螺杆菌感染是不可靠的。抗体效价高低可作为急性感染诊断或制订随后治疗方案的依据。

5. **粪便抗原检测** 这是一项新兴检测。采用多克隆抗体检测粪便中幽门螺杆菌抗原。该项检测有望替代血清学检测而成为常规筛选方法。

6. **核酸检测** 设计多种 DNA 探针，用 PCR 直接检测胃液、粪便、齿斑和水源中的幽门螺杆菌，甚至可检测到耐药基因和携带 cagA 的致病株。

四、防 治 原 则

目前尚无有效的预防措施，因尿素酶和热休克蛋白是唯一表达在细菌表面的蛋白，以其作为抗原开发幽门螺杆菌的疫苗正在研制中。治疗可用抗菌疗法，多采用以枸橼酸铋钾或抑酸剂为基础，再加两种抗生素的三联疗法。

（廖 芳）

笔记

第十二章　厌氧性细菌

厌氧性细菌(anaerobic bacterium),简称厌氧菌,是指一大群生长和代谢不需要**氧气**,利用**发酵**获取能量的细菌的总称。该群细菌须在低氧分压条件下才能生长,而在含 10% CO_2 的固体培养基表面不能生长。根据能否形成芽胞,可将厌氧性细菌分为两大类:**有芽胞的厌氧芽胞梭菌属和无芽胞厌氧菌**。厌氧芽胞梭菌属临床常见的有破伤风梭菌、产气荚膜梭菌、肉毒梭菌及艰难梭菌,主要引起外源性感染。无芽胞厌氧菌则包括多个属的球菌和杆菌,大多为人体正常菌群的成员,主要引起内源性感染。近年来,随着科学研究的条件不断改善,对厌氧菌的研究日益深入,发现在临床上由无芽胞厌氧菌引起的感染很常见。有关厌氧菌的基本生物学特性及其分类也处于不断变化之中。

第一节　厌氧芽胞梭菌属

厌氧芽胞梭菌属(*Clostridium*)的细菌是一群**革兰染色阳性、能形成芽胞的大杆菌**,由于芽胞直径比菌体宽,使菌体膨大呈梭形,故此得名。该菌属中**大多数细菌为严格厌氧菌。主要分布于土壤、人和动物肠道**。多数为腐生菌,**少数为致病菌**,在适宜条件下,芽胞发芽形成繁殖体,**产生强烈的外毒素**,引起人类和动物疾病。在人类主要引起破伤风、气性坏疽和肉毒中毒等严重疾病。此外,还与皮肤、软组织感染,抗生素相关的腹泻和肠炎有关。**厌氧芽胞梭菌对热、干燥和消毒剂均有强大的抵抗力**。该菌属绝大多数细菌均有周鞭毛,无荚膜,仅产气荚膜梭菌等极少数细菌例外。由于不同的细菌芽胞形态及其在菌体中的位置各不相同,因此,了解这些有助于菌种的鉴定。

一、破伤风梭菌

破伤风梭菌(*C. tetani*)是**破伤风**的病原菌,为**外源性感染**。当机体受到外伤,创口被污染,或分娩时使用不洁器械剪断脐带或脐部消毒不严格等情况下,该菌均可侵入,芽胞发芽,细菌开始分裂繁殖,释放毒素。发病后机体呈强直性痉挛、抽搐,可因窒息或呼吸衰竭死亡。据估计世界上每年约有 100 万例病例发生,死亡率在 30%~50% 之间,其中一半的死亡病例是新生儿。

(一)生物学性状

菌体细长,(0.5~1.7)μm×(2.1~18.1)μm,**革兰染色阳性**。有周鞭毛、无荚膜。**芽胞呈正圆形,直径大于菌体,位于菌体顶端,使细菌呈鼓槌状,为该菌典型特征**(图 12-1)。菌落疏松,不规则,看似羽毛状,边缘不整齐,呈锯齿状。**严格厌氧**。在血平板上,37℃培养 48 小时后始见薄膜状爬行生长物,伴 β 溶血。不发酵糖类,不分解蛋白质。芽胞通常 100℃ 1 小时可被完全破坏,**在干燥的土壤和尘埃中可存活数年**。



图 12-1　破伤风梭菌
(光镜 ×1000,杨致邦提供)

(二)致病性与免疫性

破伤风梭菌由伤口侵入人体引起破伤风。

笔记

但在一般表浅伤口病菌不能生长。其感染的重要条件是伤口需形成**厌氧微环境**：伤口窄而深（如刺伤），伴有泥土或异物污染；大面积创伤、烧伤，坏死组织多，局部组织缺血；同时伴有需氧菌或兼性厌氧菌混合感染。这些情况均易造成伤口局部的厌氧微环境，有利于破伤风梭菌繁殖。该菌无侵袭力，仅在局部繁殖，其致病作用完全有赖于该菌所产生的毒素。

破伤风梭菌能产生两种外毒素，一种是对氧敏感的**破伤风溶血毒素**（tetanolysin），其在功能上和抗原性与链球菌溶血素 O 相似，但在致破伤风疾病中的致病机制尚不清楚。另一种为质粒编码的**破伤风痉挛毒素**（tetanospasmin），**是目前已知的引起破伤风的主要致病物质**。

破伤风痉挛毒素属**神经毒素**（neurotoxin），毒性极强，仅次于肉毒毒素。腹腔注入小鼠的半数致死量（LD_{50}）为 0.015ng，对人的致死量小于 1μg。毒素在细菌溶解时释放，其化学性质为蛋白质，不耐热，65℃ 30 分钟即被破坏；亦可被肠道中存在的蛋白酶所破坏。该毒素对**脊髓前角细胞和脑干神经细胞**有高度的亲和力。由菌体释放的毒素被局部神经细胞吸收或经淋巴、血液循环到达中枢神经系统而致病。

细菌最初合成的痉挛毒素为一条分子量约 150kDa 的多肽，释出菌体时，即被细菌蛋白酶裂解为两条分子量不同的链：一条分子量约 50kDa 的轻链（A 链）和一条 100kDa 的重链（B 链），轻链和重链间仍由二硫键连接在一起。其中轻链为毒性部分，重链具有结合神经细胞和转运毒素分子的作用。重链通过其羧基端识别神经肌肉接点处运动神经元外胞浆膜上的受体并与之结合，促使毒素进入细胞内的由细胞膜组分构成的小泡中。小泡从外周神经末梢沿神经轴突逆行向上，到达运动神经元，通过**跨突触运动**（trans-synaptic movement），小泡从运动神经元进入传入神经末梢，从而进入中枢神经系统。再通过重链氨基端的介导产生膜的转位使轻链进入胞质溶胶。轻链为一种**锌内肽酶**（zinc endopeptidase），可裂解储存有**抑制性神经介质**（γ-氨基丁酸，甘氨酸）小泡上膜蛋白特异性肽键，使小泡膜蛋白发生改变，从而**阻止抑制性神经介质的释放**。机体在正常生理情况下，当机体屈肌的运动神经元受到刺激而兴奋时，同时还有冲动传递给抑制性神经元，使其释放出 γ-氨基丁酸、甘氨酸抑制性介质，以抑制同侧伸肌的运动神经元，因此，当屈肌收缩时而伸肌自然松弛，肢体屈伸动作十分协调。此外，屈肌运动神经元还受到抑制性神经元的反馈调节，使屈肌运动神经元的兴奋性强弱受到控制，不至于过高。当破伤风痉挛毒素阻止抑制性神经介质的释放，干扰了抑制性神经元的协调作用，迫使肌肉活动的兴奋与抑制失调，导致屈肌、伸肌同时发生强烈收缩，骨骼肌出现强烈痉挛。

破伤风潜伏期可从几天至几周，与原发感染部位距离中枢神经系统的远近有关。典型的症状是咀嚼肌痉挛所造成的**苦笑貌**、**牙关紧闭**及持续性背部痉挛（**角弓反张**）。其他早期症状还包括有漏口水、出汗和激动；因自主神经系统功能紊乱，还可产生心律不齐、血压波动和因大量出汗造成的脱水。

破伤风免疫属外毒素免疫，主要是抗毒素发挥中和作用。破伤风痉挛毒素毒性很强，极少量毒素即可致病，而如此少量的毒素尚不足以引起机体产生免疫效应，且毒素与组织结合后，也不能有效刺激免疫系统产生抗毒素，故一般病后不会获得牢固免疫力。**获得有效抗毒素的途径是进行人工免疫**。

（三）微生物学检查法

采用伤口直接涂片镜检和病菌分离培养的检查阳性率很低，故一般不进行。临床上根据典型的症状和病史即可作出诊断。

（四）防治原则

1. 非特异性防治措施 正确处理创口，及时清创扩创，防止厌氧微环境的形成；应用抗生素杀灭破伤风梭菌，以消除毒素的产生。

2. 特异性预防措施 目前我国采用含有百日咳疫苗、白喉类毒素和破伤风类毒素的**百白破三联疫苗**制剂，对 3~6 个月的儿童进行免疫，可同时获得对这三种常见病的免疫力。**免疫程序**

笔记

为婴儿出生后第3、4、5个月连续免疫3次，2岁、7岁时各加强一次，以建立**基础免疫**。今后如有可能引发破伤风的外伤，立即再接种一针类毒素，血清中抗毒素滴度在几天内即可迅速升高。对伤口污染严重而又未经过基础免疫者，可立即注射**破伤风抗毒素**（tetanus antitoxin，TAT）以**获得被动免疫作紧急预防**。剂量为1500~3000单位。注射TAT被动预防的同时，可给予类毒素同时作主动免疫。

3. 特异性治疗 对已发病者应早期、足量使用TAT，一旦毒素与细胞受体结合，抗毒素就不能中和其毒性作用。剂量为10万~20万单位，包括静脉滴注、肌内注射和伤口局部注射。由于目前应用的TAT是用破伤风类毒素免疫马所获得的马血清纯化制剂，因此注射前，无论用于紧急预防还是治疗，都必须先作皮肤试验，测试有无超敏反应。必要时可采用脱敏注射法或用人抗破伤风免疫球蛋白。抗菌治疗可采用红霉素。

二、产气荚膜梭菌

产气荚膜梭菌（*C. perfringens*）广泛存在于土壤、人和动物肠道中，能引起人和动物多种疾病，也是引起严重创伤感染的重要病原菌。

（一）生物学性状

1. 形态与染色 产气荚膜梭菌为两端近乎平切的**革兰阳性粗大杆菌**，(0.6~2.4)μm×(1.3~19.0)μm。芽胞小于菌体，位于次极端，呈椭圆形，但在组织中和普通培养基上很少形成。无鞭毛。**在被感染的人或动物体内有明显的荚膜**（图12-2）。

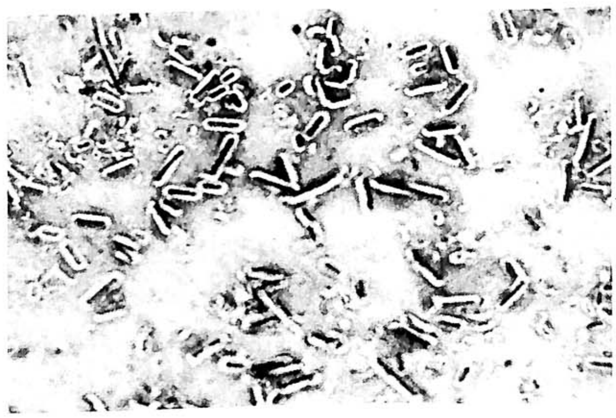


图12-2 产气荚膜梭菌
（光镜 ×1000，杨致邦提供）

2. 培养特性 厌氧，但不十分严格。20~50℃均能旺盛生长，在其最适生长温度42℃，此时该菌分裂繁殖周期仅为8分钟，易于分离培养。在血琼脂平板上，多数菌株有**双层溶血环**，内环是由θ毒素引起的完全溶血，外环是由α毒素引起的不完全溶血。在**蛋黄琼脂平板**上，菌落周围出现乳白色混浊圈，是由细菌产生的**卵磷脂酶（α毒素）**分解蛋黄中卵磷脂所致。若在培养基中加入α毒素的抗血清，则不出现混浊。此现象称**Nagler反应**，为本菌的特点。本菌代谢十分活跃，可**分解多种常见的糖类，产酸产气**。在庖肉培养基中可分解肉渣中糖类而产生大量气体。在**牛奶培养基**中能分解乳糖产酸，使其中酪蛋白凝固；同时产生大量气体（H_2和CO_2），可将凝固的酪蛋白冲成蜂窝状，将液面封固的凡士林层上推，甚至冲走试管口棉塞，气势凶猛，称“**汹涌发酵**（stormy fermentation）”现象。

3. 分型 根据产气荚膜梭菌的4种主要毒素（α、β、ε、ι）产生情况，可将其分为A、B、C、D、E五个血清型。对人致病的主要为A型。C型是坏死性肠炎的病原菌。A型很容易从外环境中分离到，属人和动物肠道正常菌群。B~E群在土壤中不能存活，但可寄生在动物肠道内。

（二）致病性

1. 致病物质 产气荚膜梭菌能产生十余种外毒素，有些外毒素即为胞外酶（表12-1）。

笔记

表 12-1　产气荚膜梭菌主要和次要毒素及其分型

毒素	生物学作用	毒素分型 A	B	C	D	E
主要毒素						
α (alpha)	卵磷脂酶，增加血管通透性，溶血和坏死作用	+	+	+	+	+
β (beta)	坏死作用	−	+	+	−	−
ε (epsilon)	增加胃肠壁通透性	−	−	−	+	−
ι (iota)	坏死作用，增加血管通透性	−	−	−	−	+
次要毒素						
δ (delta)	溶血素	−	±	+	−	−
θ (theta)	溶血素，细胞毒素	±	+	+	+	+
κ (kappa)	胶原酶、明胶酶、坏死作用	+	+	+	+	+
λ (lambda)	蛋白酶	−	+	−	+	+
μ (mu)	透明质酸酶	±	+	±	±	±
ν (nu)	DNA 酶	±	+	+	±	±
神经氨酸酶	改变神经节苷脂受体	+	+	+	+	+
其他						
肠毒素	肠毒素、细胞毒素	+	nt	+	+	t

注：+ 大多菌株产生；± 某些菌株产生；− 不产生；nt 未研究

四种主要毒素中，**α 毒素毒性最强最重要**；各型菌均能产生。以 A 型产量最大。α 毒素能分解细胞膜上磷脂和蛋白形成的复合物，造成红细胞、白细胞、血小板和内皮细胞溶解，引起血管通透性增加伴大量溶血、组织坏死，肝脏、心功能受损，在气性坏疽的形成中起主要作用。

此外，很多 A 型菌株和少数 C、D 型菌株还能产生肠毒素，为不耐热的蛋白质，100℃瞬时被破坏。其作用机制是整段肠毒素肽链嵌入了细胞膜，使得膜离子运输功能受损，膜的通透性改变，进而引起腹泻。肠毒素主要作用于回肠，其次为空肠，对十二指肠基本无作用。近来发现肠毒素还可作为超抗原，能大量激活外周 T 淋巴细胞并释放各种淋巴因子，参与致病作用。

2. 所致疾病

(1) 气性坏疽：60%~80% 的病例由 A 型引起，但除产气荚膜梭菌外，至少还有五种其他梭菌也能引起气性坏疽。该病多见于战伤和地震灾害，也可见于平时大面积创伤的工伤、车祸等。**致病条件与破伤风梭菌相似**。

气性坏疽潜伏期短，一般仅为 8~48 小时，病菌通过产生多种毒素和侵袭性酶，破坏组织细胞，发酵肌肉和组织中的糖类，产生大量气体，造成**气肿**；同时血管通透性增加，水分渗出，局部**水肿**，进而挤压软组织和血管，影响血液供应，造成组织坏死。严重病例表现为组织胀痛剧烈，水气夹杂，触摸有**捻发感**，最后产生大块组织坏死，并有恶臭。病菌产生的毒素和组织坏死的毒性产物被吸收入血，引起毒血症、休克，死亡率高达 40%~100%。

(2) 食物中毒：由该菌引发的**食物中毒**为食入被大量(10^8~10^9)细菌繁殖体污染的食物（主要为肉类食品）而引起，较多见。潜伏期约 10 小时，临床表现为腹痛、腹胀、水样腹泻；无热、无恶心呕吐。1~2 天后自愈。如不进行细菌学检查常难确诊。

(三) 微生物学检查法

主要针对气性坏疽。因气性坏疽一旦发生，病情凶险，需尽快作出诊断。

1. 直接涂片镜检　这是**极有价值的快速诊断法**。从深部创口取材涂片，革兰染色，镜检见

笔记

有**革兰阳性大杆菌**，**白细胞甚少且形态不典型**（因毒素作用，白细胞无趋化反应），**并伴有其他杂菌等三个特点**即可报告初步结果。早期诊断能避免患者最终截肢或死亡。

2. 分离培养与动物试验 取坏死组织制成悬液，接种血平板或庖肉培养基，厌氧培养，观察生长情况，取培养物涂片镜检，并用生化反应鉴定。必要时可取细菌培养液 0.5~1ml 静脉注射小鼠，10 分钟后处死，置 37℃经 5~8 小时观察，如动物躯体膨胀，取肝或腹腔渗出液涂片镜检并分离培养。疑为产气荚膜梭菌引起的食物中毒，在发病后一日内可取剩余食物或粪便作细菌学检查。若检出大于 10^5 个病菌 / 克食品或 10^6 个病菌 / 克粪便可确诊。

（四）防治原则

对局部感染应尽早施行扩创手术，切除感染和坏死组织，必要时截肢以防止病变扩散。大剂量使用青霉素等抗生素以杀灭病原菌和其他细菌。有条件可使用**气性坏疽多价抗毒素和高压氧舱法**，后者可使血液和组织中的氧含量提高 15 倍，能部分抑制厌氧菌的生长。

三、肉毒梭菌

肉毒梭菌（*C. botulinum*）**主要存在于土壤中**，在厌氧环境下能产生毒性极强的**肉毒毒素**而引起疾病，最常见的为**肉毒中毒**和**婴儿肉毒病**。

（一）生物学特性

肉毒梭菌为**革兰阳性**粗短杆菌，0.9μm ×（4~6.0）μm，芽胞呈椭圆形，直径大于菌体，位于次极端，使细胞呈汤匙状或网球拍状（图 12-3）。有鞭毛，无荚膜。**严格厌氧**，可在普通琼脂平板上生长，能产生脂酶；在卵黄培养基上，菌落周围出现混浊圈。根据遗传特性现分为四组；根据神经毒素的抗原性分 A、B、C、D、E、F、G 七个型，大多数菌株只产生一种型别毒素。对人致病的主要有 A、B、E、F 型。我国报告大多为 A 型。C、D 型毒素的菌株，主要引起鸟类肉毒病。**肉毒毒素不耐热，煮沸 1 分钟即可被破坏。**



图 12-3 肉毒梭菌（×1000）

（二）致病性

1. 致病物质 肉毒梭菌产生的剧烈的**神经外毒素——肉毒毒素**。**肉毒毒素是已知最剧烈的毒物**，毒性比氰化钾强 1 万倍。纯结晶的肉毒毒素 1mg 能杀死 2 亿只小鼠，对人的致死量约为 0.1μg。肉毒毒素的结构、功能和致病机制与破伤风外毒素非常相似。前体和裂解后片段的大小也相当。主要不同点是：①肉毒毒素作用于外周**胆碱能神经**，**抑制神经肌肉接点处神经介质乙酰胆碱的释放**，**导致弛缓性麻痹**。②毒素经内化作用进入细胞内由细胞膜形成的小泡中，不像破伤风毒素从外周神经末梢沿神经轴突上行，而是留在神经肌肉接点处。③肉毒毒素前体分子先与一些非毒性蛋白形成一种大小不等的复合物。复合物中的毒性分子可稳定存在于外环境和胃肠道。进入小肠后，在碱性情况下解离，被吸收进入血液循环。④只有 C 型和 D 型毒素是由噬菌体编码，其他型毒素均由染色体决定。

2. 所致疾病

（1）食物中毒：食品在制作过程中被肉毒梭菌芽胞污染，制成后未彻底灭菌，芽胞在厌氧环境中发芽繁殖，产生毒素，食前又未经加热烹调，食入毒素后发生**食物中毒**。**该病是单纯性毒素中毒，而非细菌感染。**

肉毒毒素引起的食物中毒在我国十几个省、区均有发现，新疆较多。引起该病的食物国外以罐头、香肠、腊肠等制品为主；国内据新疆统计，由发酵豆制品（臭豆腐、豆瓣酱等）引起的占 80% 以上，发酵面制品（甜面酱等）占 10% 左右。在当前食品种类发生变化的情况下，也应对肉

笔记

类食品的肉毒中毒保持警惕。

肉毒中毒的临床表现与其他食物中毒不同，**胃肠道症状很少见，主要为神经末梢麻痹**。潜伏期可短至数小时，先有一般不典型的乏力、头痛等症状，接着出现复视、斜视、眼睑下垂等眼肌麻痹症状；再是吞咽、咀嚼困难、口干、口齿不清等咽部肌肉麻痹症状，进而膈肌麻痹、呼吸困难，直至呼吸停止导致死亡。很少见肢体麻痹。不发热，神智清楚。如及时给予支持疗法与控制呼吸道感染，病死率可从 70% 降低至 10%。存活患者恢复十分缓慢，可从几个月到几年，直到被感染的神经末梢重新长出。

(2) 婴儿肉毒病：1976 年美国首先报告。1 岁以下，特别是 6 个月以内的婴儿，因其肠道的特殊环境及缺乏能拮抗肉毒梭菌的正常菌群，食入被肉毒梭菌芽胞污染的食品（如蜂蜜）后，芽胞发芽、繁殖，产生的毒素被吸收而致病。症状与肉毒毒素食物中毒类似，早期症状是便闭，吮吸、啼哭无力。婴儿肉毒病死亡率不高（1%~2%）。

(3) 创伤感染中毒：若伤口被肉毒梭菌芽胞污染后，芽胞在局部的厌氧环境中能发芽并释放出肉毒毒素，吸收后导致机体致病。

（三）微生物学检查法

食物中毒、婴儿肉毒病患者可取粪便、剩余食物分离病菌，同时检测粪便、食物和患者血清中毒素活性。粪便、食物等标本中的细菌检测可先 80℃加热 10 分钟，杀死标本中所有的细菌繁殖体，再用加热标本进行厌氧培养分离本菌。毒素检查可将培养物滤液或食物悬液上清液分成两份，其中一份与抗毒素混合，然后分别注射小鼠腹腔，如果抗毒素处理小鼠得到保护表明有毒素存在。

（四）防治原则

加强食品卫生管理和监督；个人防护包括低温保存食品，防止芽胞发芽；80℃加热食品 20 分钟破坏毒素。对患者应尽早根据症状作出诊断，迅速注射 A、B、E 三型多价抗毒素，同时加强护理和对症治疗，特别是维持呼吸功能，以显著降低死亡率。

四、艰难梭菌

艰难梭菌（*C. difficile*）是人类肠道中正常菌群之一，当患者长期使用或不规范使用某些抗生素（氨苄西林、头孢霉素和红霉素等）以后，可引起肠道内的菌群失调，耐药的艰难梭菌能导致**抗生素相关性腹泻**（antibiotic-associated diarrhea）和**假膜性结肠炎**（pseudomembranous colitis）等疾病。

艰难梭菌为**革兰阳性粗大杆菌**，(0.5~1.9)μm×(3.0~16.9)μm。有鞭毛。卵圆形芽胞位于次极端，芽胞在外环境可存活数周至数月。用环丝氨酸 - 甘露醇等特殊培养基可从粪便中分离到本菌。

部分艰难梭菌能产生 A、B 两种毒素，**A 为肠毒素**，能趋化中性粒细胞浸润回肠肠壁，释放淋巴因子，导致液体大量分泌和出血性坏死；毒素 **B 为细胞毒素**，能使肌动蛋白解聚，损坏细胞骨架，致局部肠壁细胞坏死，直接损伤肠壁细胞。这两种毒素基因（*tox* 基因）位于染色体上。长期使用抗生素导致菌群失调后，该菌可引起内源性感染。在医院内，若易感人群增多，亦可引起外源性感染。感染率 15%~25%，但大多为无症状携带者。症状一般出现在抗生素治疗 5~10 天，水样腹泻。5% 的病人可出现血水样腹泻，排出假膜，有发热、白细胞增多等全身中毒表现，严重者可危及生命。治疗需及时停用相关抗生素，改用本菌敏感的万古霉素或甲硝唑。由于芽胞不易被抗生素杀灭，复发率为 20%~30%。

第二节　无芽胞厌氧菌

与人类疾病有关的无芽胞厌氧菌寄生于人和动物的体表及与外界相通的腔道内，构成人

笔记

体的正常菌群，包括革兰阳性和革兰阴性的球菌和杆菌。在人体正常菌群中，无芽胞厌氧菌占有绝对优势，是其他非厌氧性细菌(需氧菌和兼性厌氧菌)的10~1000倍。例如在肠道菌群中，厌氧菌占99.9%，大肠埃希菌等只占0.1%。皮肤、口腔、上呼吸道和泌尿生殖道的正常菌群中，80%~90%为无芽胞厌氧菌。在正常情况下，它们对人体无害；但在某些特定状态下，这些厌氧菌作为机会致病菌可导致内源性感染。在临床上，无芽胞厌氧菌的感染率高达90%以上，且以混合感染多见。

一、生物学性状

无芽胞厌氧菌有30多个菌属，200余菌种，其中与人类疾病相关的主要有10个属(表12-2)。

表12-2 与人类疾病相关的主要无芽胞厌氧菌

革兰阴性		革兰阳性	
杆菌	球菌	杆菌	球菌
类杆菌属(*Bacteroides*)	韦荣菌属(*Veillonella*)	丙酸杆菌属(*Propionibacterium*)	消化链球菌属(*Pepto- streptococcus*)
普雷沃菌属(*Prevotella*)		双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)	
紫单胞菌属(*Porphyromonas*)		真杆菌属(*Eubacterium*)	
梭杆菌属(*Fusobacterium*)		放线菌属(*Actinomyces*)	

1. 革兰阴性厌氧杆菌 临床上最常见的革兰阴性厌氧杆菌中，以**类杆菌属**中的**脆弱类杆菌**(*B. fragilis*)最为重要，其是直肠部位的正常菌群。而在无芽胞厌氧菌感染中，其占临床厌氧菌分离株的25%，类杆菌分离株的50%。该菌的形态特征为两端钝圆而浓染、中间着色浅似空泡状。但在感染标本中，菌体形态呈多型性，有荚膜(图12-4)。**梭杆菌属**多为口腔、直肠和女性生殖道中的正常菌群。其菌体延伸成梭形，其余菌属形态都非常小。除类杆菌在培养基上生长迅速外，其余均生长缓慢，需3天以上。类杆菌有典型的革兰阴性菌细胞壁，但其脂多糖无内毒素活性，主要原因是其氨基葡萄糖残基上脂肪酸较少和缺乏磷酸基团之故。


图12-4 脆弱类杆菌
(光镜 ×1000，杨致邦提供)

2. 革兰阴性厌氧球菌 以**韦荣球菌属**最重要。菌体直径0.3~0.5μm，常成对、成簇或短链状排列，是咽喉部主要厌氧菌。但在临床厌氧菌分离标本中，分离率小于1%，且为混合感染菌之一。其他革兰阴性球菌目前难以分离到。

3. 革兰阳性厌氧杆菌 在临床厌氧菌分离株中约占22%，其中57%为**丙酸杆菌**，23%为**真杆菌**。

(1) 丙酸杆菌：主要存在于皮肤正常菌群中。为短小杆菌，常呈链状或成簇排列，无鞭毛，能发酵糖类产生丙酸。能在普通培养基上生长，时间需2~5天。与人类有关的有3个菌种，**痤疮丙酸杆菌**(*P. acnes*)最为常见。

(2) 双歧杆菌属：严格厌氧。菌体呈多形态，有分枝，无动力，耐酸。双歧杆菌在婴儿、成人肠道菌群中占很高比例，在婴儿尤为突出。该菌在大肠中起重要的调节作用，控制pH，对抗外源致病菌的感染。只有**齿双歧杆菌**(*B. dentium*)与**龋齿和牙周炎**有关，但其致病作用仍不明确。

笔记

其他种细菌极少能从临床标本中分离到。

（3）真杆菌属：严格厌氧，菌体细长，单一形态或多形态，少数菌株有鞭毛，生化反应活泼，生长缓慢，常需培养 7 天。真杆菌是肠道重要的正常菌群。部分菌种与感染有关，但都出现在混合感染中，最常见的为迟钝真杆菌（*E. lentum*）。

4. 革兰阳性厌氧球菌　本菌属细菌生长缓慢，培养需 5~7 天。其中有临床意义的是**消化链球菌属**，主要寄居于阴道。在临床厌氧菌分离株中，约占 20%~35%，为第 2 位，仅次于脆弱类杆菌，但大多亦为混合感染。厌氧菌菌血症仅 1% 由革兰阳性球菌引起，主要为本菌属，常因女性生殖道感染而引起。

二、致 病 性

1. 致病条件　无芽胞厌氧菌是寄生于人体体表及与外界相通腔道中的正常菌群，当其寄居部位改变，宿主免疫力下降和菌群失调等情况下，**伴有局部厌氧微环境的形成**，如因烧伤、放化疗、肿瘤压迫等组织缺氧或氧化还原电势降低则易引起内源性感染。

2. 细菌毒力　无芽胞厌氧菌的毒力主要表现在下列几方面：①通过菌毛、荚膜等表面结构吸附和侵入上皮细胞和各种组织；②产生多种毒素、胞外酶和可溶性代谢物，如脆弱类杆菌某些菌株产生的肠毒素、胶原酶、蛋白酶、纤溶酶、溶血素、DNA 酶和透明质酸酶等；③改变其对氧的耐受性，如类杆菌属很多菌种能产生出超氧化物歧化酶（SOD），使其对局部微环境的耐受性增强，有利于该菌适应新的致病生态环境。

3. 感染特征　①**内源性感染**，为其主要感染形式，感染部位可遍及全身，多呈慢性过程；②**无特定病型**，大多为化脓性感染，形成局部脓肿或组织坏死，也可侵入血流形成败血症；③**分泌物或脓液黏稠**，乳白色、粉红色、血色或棕黑色，**有恶臭**，有时有气体；④使用氨基糖苷类抗生素（链霉素、卡那霉素和庆大霉素等）长期无效；⑤分泌物直接涂片可见细菌，但**普通培养法无细菌生长**。

4. 所致疾病

（1）败血症：随着近年来的抗厌氧菌抗生素的广泛应用，临床败血症标本中厌氧菌培养阳性率只有 5% 左右，多数为脆弱类杆菌，其次为革兰阳性厌氧球菌。原发病灶约 50% 来自胃肠道，20% 来自女性生殖道。病死率为 15%~35%。

（2）中枢神经系统感染：最常见的为脑脓肿，主要继发于中耳炎、乳突炎和鼻窦炎等邻近感染，亦可经直接扩散和转移而形成。分离的细菌种类与原发病灶有关，革兰阴性厌氧杆菌最为常见。

（3）口腔感染：大多起源于牙齿感染，主要包括三大类：齿槽脓肿和下颌骨髓炎；急性坏死性溃疡性齿龈炎（奋森咽峡炎）和约 30% 的牙周病。主要由无芽胞厌氧革兰阴性杆菌引起，核梭杆菌（*F. nucleatum*）和普雷沃菌属占主导地位。

（4）呼吸道感染：无芽胞厌氧菌可感染上下呼吸道的任何部位，如扁桃体周围蜂窝织炎、吸入性肺炎、坏死性肺炎、肺脓肿和脓胸等。无芽胞厌氧菌的肺部感染发生率仅次于肺炎链球菌性肺炎。呼吸道感染中分离最多的厌氧菌为普雷沃菌属、坏死梭杆菌（*F. necrophorum*）、核梭杆菌、消化链球菌和脆弱类杆菌等。

（5）腹部和会阴部感染：胃肠道因手术、损伤、穿孔及其他异常引起的腹膜炎、腹腔脓肿等感染主要与消化道无芽胞厌氧菌有关。任何原因引起的胃酸产生失调均可导致口腔微生物，包括普雷沃菌属细菌的定植；与阑尾、大肠相关的感染主要由类杆菌，尤其是脆弱类杆菌引起。在腹部、会阴部感染中，脆弱类杆菌占病原菌的 60% 以上。

（6）女性生殖道与盆腔感染：手术或其他并发症引起的女性生殖道一系列严重感染中，如盆腔脓肿、输卵管卵巢脓肿、子宫内膜炎、脓毒性流产等，无芽胞厌氧菌是主要病原体。分离最常

笔记

见的细菌为消化链球菌属、普雷沃菌属和卟啉单胞菌属等。因阻塞引起的泌尿道感染亦以无芽胞厌氧菌为主。

(7) 其他：无芽胞厌氧菌尚可引起皮肤和软组织感染和心内膜炎等。

三、微生物学检查法

1. 标本采取 无芽胞厌氧菌大多是人体正常菌群，**标本应从感染中心处采取并注意避免正常菌群的污染。最可靠的标本是无菌切取或活检得到的组织标本；从感染深部吸取的渗出物或脓汁亦可**。厌氧菌大多对氧极敏感，标本采取后应立刻放入特制的厌氧标本瓶中，并迅速送检。

2. 直接涂片镜检 脓液或穿刺液标本可直接涂片染色后观察细菌的形态特征、染色性及菌量多少，供初步判断结果时参考。

3. 分离培养与鉴定 这是**证实无芽胞厌氧菌感染的关键方法**。标本应立即接种到营养丰富、新鲜，含有还原剂的培养基或特殊培养基、选择培养基中，最常用的培养基是牛心脑浸液为基础的血平板。接种最好在厌氧环境中进行(如厌氧手套箱等)。接种后置于 37℃厌氧培养 2~3 天，如无菌生长，继续培养至 1 周。挑取生长菌落接种两只血平板，分别置于有氧和无氧环境中培养，在两种环境中都能生长的是兼性厌氧菌，只能在厌氧环境中生长的才是专性厌氧菌。获得纯培养后，再经生化反应等继续进行鉴定。

此外，利用气液相色谱检测细菌代谢终末产物能迅速作出鉴定，需氧菌和兼性厌氧菌只能产生乙酸，而检测出其他短链脂肪酸，如丁酸、丙酸则提示为厌氧菌。核酸杂交、PCR 等分子生物学方法已能对一些重要的无芽胞厌氧菌作出迅速和特异性诊断。

四、防 治 原 则

清洗伤口，去除坏死组织和异物，维持局部良好的血液循环，预防局部出现厌氧微环境。**要正确选用抗生素**，临床上 95% 以上无芽胞厌氧菌包括脆弱类杆菌对氯霉素、亚胺培南、哌拉西林、羧噻吩青霉素及甲硝唑等敏感。万古霉素适用于所有革兰阳性厌氧菌感染。但越来越多抗性菌株的产生增加了治疗的难度，95% 菌株对青霉素有抗性。如无芽胞厌氧菌感染中最常见的脆弱类杆菌能产生 β－内酰胺酶，可破坏青霉素和头孢霉素，因此，**对分离株要进行抗生素敏感性测定**，以指导临床正确地选用抗生素用于治疗。

（王明丽）

笔记

第十三章　分枝杆菌属

分枝杆菌属（*Mycobacterium*）是一类细长略弯曲的杆菌，因有分枝生长的趋势而得名。此菌属的显著特性为：①**胞壁中含有大量脂质**，可达菌体干重的40%左右，故生长形成粗糙的疏水性菌落，并且也难以用一般染料染色，需用助染剂并加温使之着色，而着色后又不易以含有3% HCl的乙醇脱色，故也称为**抗酸杆菌**；②无鞭毛、无芽胞，也不产生内、外毒素；③种类很多，有致病性和非致病性两大类，其中引起人类疾病的主要有结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、麻风分枝杆菌，另外还有几种非结核分枝杆菌也可引起感染；④所致感染多为慢性感染过程，长期迁延，并有破坏性的组织病变。

第一节　结核分枝杆菌

结核分枝杆菌（*Mycobacterium tuberculosis*）是人类**结核病**的病原体；人是结核分枝杆菌唯一的宿主。该菌可侵犯全身各组织器官，但以肺部感染最多见。随着抗结核药物的不断发展和卫生状况的改善，世界各国结核病的发病率和死亡率曾大幅度下降。但自20世纪90年代以后，由于结核分枝杆菌耐药菌株特别是多重耐药株的出现，艾滋病的流行使易感人群增加，社会快速发展中的人群流动性和环境污染增加而使病原体传播增加等原因，结核病的发病率又重新不断上升。目前该病是全球尤其是发展中国家危害最为严重的慢性传染病之一，每年约有800万例新病例发生，每年死于结核病的人数达300万人之多，其中95%发生在发展中国家。近年来我国肺结核的发病率和死亡人数在27种法定报告传染病中排第一位，每年死于结核病的人数约为25万人。

一、生物学性状

（一）形态与染色

结核分枝杆菌细长略弯曲，大小约(1~4)μm×0.4μm，呈单个或分枝状排列，无鞭毛、无芽胞。在陈旧的病灶和培养物中，形态常不典型，可呈颗粒状、串珠状、短棒状、索状、长丝形等。结核分枝杆菌一般常用**齐－尼**（Ziehl-Neelsen）**抗酸染色**，结核分枝杆菌染成红色，而其他非抗酸性细菌及细胞等呈蓝色。结核分枝杆菌的抗酸性与胞壁内所含**分枝菌酸残基**和胞壁固有层的完整性有关。

近年来发现结核分枝杆菌在细胞壁外尚有一层微荚膜，一般因制片时遭受破坏而不易看到。若在制备电镜标本固定前用明胶处理，可防止微荚膜脱水收缩，在电镜下可看到菌体外有一层较厚的透明区，即微荚膜。

（二）培养特性与生化反应

结核分枝杆菌为**专性需氧菌，营养要求高**。在含有蛋黄、马铃薯、甘油和天门冬酰胺等的固体培养基上才能生长。最适pH为6.5~6.8，最适温度为37℃，**生长缓慢**，约12~24小时繁殖一代，接种后培养3~4周才出现肉眼可见的菌落。菌落为干燥、坚硬，表面呈颗粒状、乳酪色或黄色，形似菜花样。在液体培养基中呈粗糙皱纹状菌膜生长，若在液体培养基内加入水溶性脂肪酸，可降低结核分枝杆菌表面的疏水性，细菌呈均匀分散生长，有利于进行药物敏感试验等。

结核分枝杆菌不发酵糖类，其与牛分枝杆菌的区别在于前者可合成烟酸和还原硝酸盐，而后者则不能。

笔记

(三) 主要菌体成分及其作用

结核分枝杆菌无内毒素,也不产生外毒素和侵袭性酶类,其致病作用主要靠菌体成分,特别是胞壁中所含的大量脂质。脂质含量与结核分枝杆菌的毒力呈平行关系,含量越高毒力越强。

1. 脂质(lipid) 结核分枝杆菌的脂质占菌体干重的 20%~40%,占胞壁干重的 60%,主要是磷脂、脂肪酸和蜡质 D,它们大多与蛋白质或多糖结合以复合物存在。①**磷脂**:能刺激单核细胞增生,并可抑制蛋白酶的分解作用,使病灶组织溶解不完全,形成结核结节和干酪样坏死。②**分枝菌酸**(mycolic acid):在脂质中比重较大,与分枝杆菌的抗酸性有关。其中 6,6- **双分枝菌酸海藻糖**(6,6-dimycocyl-a,a'-D-trehalose)具有破坏细胞线粒体膜,毒害微粒体酶类,抑制中性粒细胞游走和吞噬,引起慢性肉芽肿的作用;具有该物质的结核分枝杆菌毒株在液体培养基中能紧密黏成索状,故该物质也称为**索状因子**(cord factor)。③**蜡质 D**:为胞壁中的主要成分,是一种肽糖脂(peptidoglycolipid)与分枝菌酸的复合物,能引起迟发型超敏反应,并具有佐剂作用。④**硫酸脑苷脂**(sulfatide)和**硫酸多酰基化海藻糖**(multiacylated trehalose sulfate),存在于结核分枝杆菌毒株细胞壁中,能抑制吞噬细胞中的吞噬体与溶酶体融合,使结核分枝杆菌在细胞内存活;这类糖脂能结合中性红染料产生中性红反应,借此可鉴定结核分枝杆菌有无毒力。

2. 蛋白质 结核分枝杆菌菌体内含有多种蛋白质,其中重要的是**结核菌素**(tuberculin)。结核菌素与蜡质 D 结合,能引起较强的迟发型超敏反应。

3. 多糖(polysaccharide) 常与脂质结合存在于胞壁中,主要有半乳糖、甘露醇、阿拉伯糖等。多糖可使中性粒细胞增多,引起局部病灶细胞浸润。而多糖抗原Ⅱ是阿拉伯甘露聚糖,是分枝杆菌发生凝聚反应的特异性表面抗原。

4. 核酸 结核分枝杆菌的核糖体核糖核酸(ribonucleic acid ribosome,rRNA)是该菌的免疫原之一,能刺激机体产生特异性细胞免疫。结核分枝杆菌的全基因组序列约 4.41Mb,有 3924 个开放阅读框,约 4000 个基因;基因组特征是 G+C 含量高达 65.6%;每个可能的药物靶子和可用于疫苗设计的保护性抗原均可能从基因组序列中检索。

5. 荚膜 结核分枝杆菌荚膜的主要成分为多糖,部分脂质和蛋白质。荚膜对结核分枝杆菌有一定的保护作用,主要包括:①荚膜能与吞噬细胞表面的补体受体 3(CR3)结合,有助于结核分枝杆菌在宿主细胞上的黏附与入侵;②荚膜中有多种酶可降解宿主组织中的大分子物质,供入侵的结核分枝杆菌繁殖所需的营养;③荚膜能防止宿主的有害物质进入结核分枝杆菌,甚至如小分子 NaOH 也不易进入。

(四) 抵抗力

结核分枝杆菌的脂类含量高,**对某些理化因子的抵抗力较强**。在干痰中可存活 6~8 个月,若黏附于尘埃上,可保持传染性 8~10 天。在 3% HCl、6% H_2SO_4 或 4% NaOH 溶液中能耐受 30 分钟,因而常以酸碱处理严重污染的样本,杀死杂菌和消化黏稠物质,以提高检出率。但是其对湿热、紫外线、乙醇的抵抗力弱。在液体中加热 62~63℃ 15 分钟或煮沸、直射日光下 2~3 小时、75% 乙醇内数分钟即死亡。

(五) 变异性

结核分枝杆菌可发生形态、菌落、毒力、免疫原性及耐药性等变异。在一些抗生素、溶菌酶的作用下,结核分枝杆菌可失去细胞壁结构而变为 L 型细菌。结核分枝杆菌对异烟肼、链霉素、利福平等抗结核药物**较易产生耐药性**;目前临床上已出现对多种抗结核药同时耐药的多重耐药(multiple drug resistance,MDR)菌株。

1908 年,Calmette 和 Guerin 将有毒的牛分枝杆菌培养于含胆汁、甘油、马铃薯的培养基中,经 230 次传代,历时 13 年,使其毒力发生变异,成为对人无致病性,而仍保持良好免疫原性的疫苗株,称为**卡介苗**(Bacille Calmette-Guerin,BCG)。

笔记

二、致 病 性

如上所述，结核分枝杆菌无内毒素，也不产生外毒素和侵袭性酶类，其致病作用可能与细菌在组织细胞内顽强增殖引起炎症反应，以及诱导机体产生迟发型超敏反应性损伤有关。结核分枝杆菌**可通过呼吸道、消化道和破损的皮肤黏膜进入机体，侵犯多种组织器官**，引起相应器官的结核病，以肺结核最为常见。

（一）肺部感染

通过飞沫或尘埃，结核分枝杆菌经呼吸道极易进入肺泡，故肺部感染最为多见。**肺结核可分为原发感染和原发后感染两大类。**

1. 原发感染 原发感染是首次感染结核分枝杆菌，多见于儿童。结核分枝杆菌随同飞沫和尘埃通过呼吸道进入肺泡，被巨噬细胞吞噬后，由于细菌细胞壁的硫酸脑苷脂和其他脂质成分抑制吞噬体与溶酶体结合，不能发挥杀菌溶菌作用，致使结核分枝杆菌在细胞内大量生长繁殖，最终导致细胞死亡崩解；释放出的结核分枝杆菌在细胞外繁殖或再被细胞吞噬，重复上述过程，如此反复引起渗出性炎症病灶，称为**原发灶**。原发灶内的结核分枝杆菌可经淋巴管扩散至肺门淋巴结，引起淋巴管炎和淋巴结肿大，X线胸片显示哑铃状阴影，称为**原发综合征**。随着机体抗结核免疫力的建立，原发灶大多可**纤维化和钙化**而自愈。但原发灶内可长期潜伏少量结核分枝杆菌，不断刺激机体强化已建立起的抗结核免疫力，也可作为以后内源性感染的来源。只有极少数免疫力低下者，结核分枝杆菌可经淋巴、血流扩散至全身，导致**全身粟粒性结核**或**结核性脑膜炎**。

2. 原发后感染 多见于成年人；大多为内源性感染，极少由外源性感染所致。由于机体已形成对结核分枝杆菌的特异性细胞免疫，对再次侵入的结核分枝杆菌有较强的局限能力，故原发后感染的特点是病灶局限，一般不累及邻近的淋巴结，主要表现为慢性肉芽肿性炎症，形成**结核结节**，发生**纤维化**或**干酪样坏死**；病变常发生在肺尖部位。

（二）肺外感染

部分肺结核患者体内的结核分枝杆菌可经血液、淋巴液扩散侵入肺外组织器官，引起相应的脏器结核，如脑、肾、骨、关节、生殖器官等结核。艾滋病等免疫力极度低下者，严重时可造成全身播散性结核。痰菌被咽入消化道可引起肠结核、结核性腹膜炎等。通过破损皮肤感染结核分枝杆菌可导致皮肤结核。近年有许多报道，肺外结核标本中结核分枝杆菌L型的检出率比较高，应引起足够重视。

值得指出的是，人体感染结核分枝杆菌后，发病与否取决于感染菌株的毒力、数量和机体的免疫状态，若机体免疫状态良好，感染菌株的毒力不强，数量有限，一般不发病，但可形成对该菌的带菌免疫，即细菌可以“休眠”状态存在于体内，刺激感染免疫的继续和存在。若机体免疫功能低下，感染菌株的毒力强，且数量较多，即可引起结核病的发生和发展。

三、免疫性与超敏反应

人类对结核分枝杆菌的感染率很高，但发病率却较低，这表明人体对结核分枝杆菌有较强的免疫力。机体感染结核分枝杆菌后，虽能产生多种抗菌体蛋白的抗体，但这些**抗体仅对细胞外的细菌具有一定作用，而对细胞内细菌不起作用**。结核分枝杆菌的免疫性与致病性均与结核分枝杆菌感染后诱发机体产生的由T淋巴细胞介导的两种免疫应答反应相关，即**细胞免疫应答**和**迟发型超敏反应**。

（一）免疫性

抗结核免疫力的持久性，依赖于结核分枝杆菌或其组分在体内的存在，一旦体内结核分枝杆菌或其组分全部消失，抗结核免疫力也随之消失，这种免疫称为**有菌免疫**或**感染免疫**（infection

笔记

immunity)。

机体的**抗结核免疫主要是细胞免疫**,包括致敏的T淋巴细胞和被激活的巨噬细胞。致敏的T淋巴细胞可直接杀死带有结核分枝杆菌的靶细胞,同时释放多种淋巴因子,如TNF-α、IFN-γ、IL-2、IL-6等,不仅能吸引NK细胞、T细胞、巨噬细胞等聚集到炎症部位,还能增强这类细胞的直接或间接的杀菌活性。被激活的巨噬细胞极大地增强了对结核分枝杆菌的吞噬消化、抑制繁殖、阻止扩散,甚至彻底消灭的能力。

(二)超敏反应

机体获得对结核分枝杆菌免疫力的同时,菌体的一些成分如蛋白质与蜡质D等也可共同刺激T淋巴细胞,形成致敏状态;体内被致敏的T淋巴细胞再次遇到结核分枝杆菌时,即释放出淋巴因子,引起强烈的**迟发型超敏反应**,形成以单核细胞浸润为主的炎症反应,容易发生**干酪样坏死**,甚至液化形成**空洞**。

儿童结核病大多为初次感染,机体尚未建立免疫和超敏反应,可发生急性全身粟粒性结核和结核性脑膜炎。成年人结核大多为复发或再次感染,此时机体已建立了抗结核分枝杆菌的免疫和超敏反应性,病症常为慢性局限性结核,不引起全身粟粒性结核和结核性脑膜炎,但局部病症较重,形成结核结节,发生纤维化或干酪样坏死。

(三)免疫与超敏反应的关系

在结核分枝杆菌感染时,细胞免疫与迟发型超敏反应同时存在,此可用**郭霍现象**(Koch's phenomenon)说明:①在健康豚鼠皮下首次注射一定量结核分枝杆菌,10~14天后注射部位缓慢地出现溃疡,深而不易愈合,邻近淋巴结肿大,细菌扩散至全身,此时结核菌素测试为阴性;②用相同剂量的结核分枝杆菌注入曾感染并已康复的豚鼠皮下,在1~2天内即迅速发生溃疡,但溃疡浅而易愈合,邻近淋巴结不肿大,细菌也很少扩散,结核菌素测试为阳性;③在康复的豚鼠皮下注射大量结核分枝杆菌,则引起注射局部及全身严重的迟发型超敏反应,甚至导致动物死亡。上述三种现象表明,首次感染出现的炎症反应偏重于病理过程,说明机体尚未建立起抗结核免疫力;再次感染发生的炎症反应则偏重于免疫预防,溃疡浅而易愈合,细菌不扩散,说明机体对结核分枝杆菌已具有一定的细胞免疫力,而溃疡迅速形成,则说明在产生免疫的同时有迟发型超敏反应发生,表现出对机体有利的一面;用过量的结核分枝杆菌进行再次感染,则引起剧烈的迟发型超敏反应,说明迟发型超敏反应对机体不利的一面。人类的原发性肺结核,原发后肺结核,严重而恶化的肺结核,相当于郭霍现象的三种情况。

近年来的实验研究证明,抗结核分枝杆菌细胞免疫与迟发型超敏反应是由不同的结核分枝杆菌抗原诱导,由不同的T淋巴细胞亚群介导和不同的淋巴因子承担的,是独立存在的两种反应。①目前结核分枝杆菌抗原研究中仅发现结核分枝杆菌的rRNA和少数分泌蛋白,如Ag85B、ESAT-6、MPT-64等十多种分泌蛋白可刺激机体产生抗结核分枝杆菌的细胞免疫,而其他众多的结核分枝杆菌蛋白与蜡质D等脂质联合作用下,仅刺激机体产生针对结核分枝杆菌的迟发型超敏反应,而不产生抗结核分枝杆菌的细胞免疫;②小鼠实验表明,结核分枝杆菌感染的细胞免疫应答为$Lytl^{+}2^{-}$和$Lytl^{-}2^{-}$T淋巴细胞,而迟发型超敏反应则为$Lytl^{+}2^{+}$T淋巴细胞。

(四)结核菌素试验

1. 原理和试剂 人类感染结核分枝杆菌后,产生免疫力的同时也会发生迟发型超敏反应。将一定量的结核菌素注入皮内,如受试者曾感染结核分枝杆菌,则在注射部位出现迟发型超敏反应炎症,判为阳性,未感染结核分枝杆菌的则为阴性。此法可用于检测可疑患者曾否感染过结核分枝杆菌,接种卡介苗后是否阳转以及检测机体细胞免疫功能。

结核菌素试剂有两种,一种为**旧结核菌素**(old tuberculin,OT),为含有结核分枝杆菌的甘油肉汤培养物加热过滤液,主要成分是结核蛋白,也含有结核分枝杆菌生长过程中产生的其他代谢产物和培养基成分。另一种为**纯蛋白衍生物**(purified protein derivative,PPD),是OT经三氯醋

笔记

酸沉淀后的纯化物；PPD 有两种，即 PPDC 和 BCGPPD，前者由人结核分枝杆菌提取，后者由卡介苗制成，每 0.1ml 含 5 单位。

2. 方法　目前多采用 PPD 法。规范试验方法是取 PPDC 和 BCGPPD 各 5 单位分别注入受试者两前臂掌侧**皮内**（目前仍有沿用单侧注射 PPD 的方法），48~72 小时后，**红肿硬结**小于 5mm 者为阴性反应；超过 5mm 者为阳性；≥ 15mm 者为**强阳性**。两侧红肿中，若 PPDC 侧大于 BCGPPD 侧时为感染，反之则可能为接种卡介苗所致。

3. 结果分析　阳性反应表明机体已感染过结核分枝杆菌或卡介苗接种成功，对结核分枝杆菌有迟发型超敏反应，并说明有特异性免疫力。强阳性反应则表明可能有活动性结核病，尤其是婴儿。阴性反应表明受试者可能未感染过结核分枝杆菌或未接种过卡介苗。但应注意受试者处于原发感染早期，超敏反应尚未产生，或正患严重的结核病如全身粟粒性结核和结核性脑膜炎时机体无反应能力，或患其他严重疾病致细胞免疫功能低下者（如艾滋病患者、肿瘤患者或用过免疫抑制剂者）也可能出现阴性反应。

4. 应用　结核菌素试验可用于：①诊断婴幼儿的结核病；②测定接种卡介苗后免疫效果；③在未接种卡介苗的人群中进行结核分枝杆菌感染的流行病学调查；④用于测定肿瘤患者的细胞免疫功能。

四、微生物学检查法

根据结核分枝杆菌感染的类型，应采取病灶部位的适当样本。如肺结核采取咳痰（最好取早晨第一次咳痰，挑取带血或脓痰），肾或膀胱结核以无菌导尿或取中段尿液，肠结核采取粪便样本，结核性脑膜炎进行腰椎穿刺采取脑脊液，脓胸、肋膜炎、腹膜炎或骨髓结核等则穿刺取脓汁。

（一）直接涂片染色

咳痰可直接涂片。用**抗酸染色法**染色(以 5% 苯酚复红加温染色后可染上红色，不易被含有 3% HCl 的乙醇脱色，再用亚甲蓝复染），**结核分枝杆菌染成红色，而其他非抗酸性细菌及细胞等呈蓝色**。若镜检找到抗酸性杆菌，可能是结核分枝杆菌，但通常应报告："查到抗酸性杆菌"，因样本中可能混杂有非致病性抗酸杆菌，单凭形态染色不能确定是结核分枝杆菌，需进一步分离培养鉴定。

如样本中结核分枝杆菌量少，杂菌和杂质多时，直接涂片不易检出（一般需要每毫升痰液含有结核分枝杆菌 10 万个以上才能检出），应**浓缩集菌**后，再涂片染色镜检，以提高检出阳性率。无菌采取的脑脊液、导尿或中段尿可直接用离心沉淀集菌。咳痰或粪便样本因含杂菌多，在浓缩集菌时需先用 4% NaOH 或 3% HCl 或 6% H_2SO_4 处理，然后用离心沉淀法将结核分枝杆菌浓缩聚集于管底，再取沉淀物涂片作抗酸染色检查、分离培养或动物试验。

（二）分离培养

结核分枝杆菌生长缓慢，培养期长，当浓缩集菌的沉淀物以酸碱中和，接种于固体培养基上后，应以蜡封口防止干燥。37℃培养 4~6 周后检查结果。根据生长缓慢，菌落干燥、颗粒状、乳酪色像菜花状，菌体染色抗酸性强等特点，可判定为结核分枝杆菌。如菌落、菌体染色都不典型，则可能为非典型结核分枝杆菌，应进一步做鉴别试验。由于抗结核药物的使用，患者标本中常分离出结核分枝杆菌 L 型，故多次检出 L 型亦可作为结核病活动的判断标准之一。

为了缩短培养时间，可采用液体快速玻片培养法。将浓缩集菌的沉淀物涂于玻片上，待干燥后将玻片置于含血清的结核分枝杆菌专用液体培养基，37℃培养 1 周，取出玻片进行抗酸染色镜检；此方法虽较快，但需进一步与非结核分枝杆菌区分。

（三）动物试验

常用豚鼠或地鼠鉴别疑似结核分枝杆菌的分离培养物以及进行毒力测定。取经浓缩集菌处理的样本 1 ml 注射于豚鼠或地鼠腹股沟皮下，经 3~4 周饲养观察，如出现局部淋巴结肿大，消瘦或结核菌素试验阳性，可及时剖检；若观察 6~8 周后仍未见发病者，也要剖检。剖检时应注意

笔记

观察淋巴结、肝、脾、肾等脏器有无结核病变,并可进行涂片染色镜检或分离培养鉴定。

(四) 结核分枝杆菌核酸及抗体检测

目前一些分子生物学技术和免疫学技术已应用到分枝杆菌细胞学研究及临床实验室检查中。PCR 检测结核分枝杆菌 DNA 可用于结核病的早期和快速诊断,由于该方法无须培养即可在 1~2 天内获得结果,因此对因菌量少,或细菌发生 L 型变异而不易分离培养成功的标本更有实用价值;选用合适的引物,每毫升检材中含有 10~100 个活菌即可检出,检出率较涂片法或培养法高 30%~50%;PCR 过程中应注意污染等问题,防止出现假阳性或假阴性结果。此外,目前也有以结核分枝杆菌抗原采用 ELISPOT 等方法检测患者外周血中结核特异性效应 T 细胞分泌 IFN-γ 的免疫试验进行结核病的辅助诊断。

五、防 治 原 则

(一) 预防接种

广泛接种卡介苗能大大地降低结核病的发病率。根据调查统计,未接种组的发病率比接种组高 4~5 倍,婴儿因免疫力低,为卡介苗接种的主要对象。我国规定新生儿出生后即接种卡介苗,7 岁时复种,在农村 12 岁时再复种一次。一般在接种后 6~8 周如结核菌素试验转阳,则表示接种者已产生免疫力;试验阴性者应再行接种。皮内接种卡介苗后,结核菌素试验转阳率可达 96%~99%,阳性反应可维持 5 年左右。卡介苗是减毒活疫苗,因此剂型及苗内活菌数会直接影响免疫效果。

近年来,由于卡介苗的不断变异,使其免疫效果不稳定;同时卡介苗制备过程中丢失了部分与免疫记忆及保护性相关的基因,使其保护期变短,保护性免疫应答相对较弱,不能防止隐性感染者发病;加之由于耐药性菌株特别是多重耐药菌株的流行与 HIV 的合并感染以及人口流动的增加等因素,进一步加剧了结核分枝杆菌对人类的威胁,因此迫切需要研制出更有效的 TB 疫苗。目前国内外正在研究的新型结核病疫苗多达上百种,其中 50% 是亚单位疫苗,其他还包括重组卡介苗或其他活载体疫苗,营养缺陷型活疫苗,DNA 疫苗等。

(二) 治疗

结核分枝杆菌的结构及其繁殖特性比较特殊,其致病机制也尚未完全阐明,因此结核病的治疗不同于其他大多数细菌感染的治疗。抗结核治疗的原则是早期、联合、足量、规范、全程用药,尤以联合和规范用药为重要。常用的药物有异烟肼、链霉素、对氨基水杨酸钠、利福平、乙胺丁醇、喹诺酮类等。各种抗结核药物如联合应用,有协同作用,且能降低耐药性的产生,减少毒性。目前结核分枝杆菌的耐药菌株出现较多,且常有多重耐药菌株,因此在治疗过程中应对患者体内分离的结核分枝杆菌菌株作药敏试验,以测定耐药性的产生情况并指导用药。

第二节 麻风分枝杆菌

麻风分枝杆菌(*Mycobacterium leprae*)可引起**麻风病**。该病是一种慢性传染病,在世界各地均有流行。**病菌侵犯皮肤、黏膜和外周神经组织,晚期还可侵入深部组织和脏器,形成肉芽肿病变**。从 1985 年以来,麻风病在全球的流行已降低 90% 左右。在 1985 年,全球有 122 个国家呈地方性流行,而到 2003 年已减少至 10 个国家,主要集中在非洲、亚洲和拉丁美洲,病例高发国家为印度、尼泊尔和巴西。以往该病在我国不少地区均可见到,现经积极开展防治工作后,病例已大为减少,近年来稳定在 2000 例左右,新发病例已很少见。

一、生物学性状

笔记

麻风分枝杆菌在形态上酷似结核分枝杆菌,亦表现明显的**抗酸染色特性**,常在患者破溃皮

肤渗出液的细胞中发现，呈束状排列。该菌是典型的**胞内寄生菌**，某些类型患者的渗出物标本中可见有大量麻风分枝杆菌存在的感染细胞，这种细胞的胞质呈泡沫状，称为**泡沫细胞**（foam cell）或**麻风细胞**（leprosy cell），这是与结核分枝杆菌感染的一个主要区别。**麻风分枝杆菌是至今唯一仍不能人工培养的细菌**。以麻风分枝杆菌感染小鼠足垫或接种至犰狳可引起动物的进行性麻风感染，是研究麻风病的主要动物模型。

二、致病性与免疫性

自然状态下麻风分枝杆菌只侵害人，细菌由患者鼻分泌物及其他分泌物、精液或阴道分泌液中排出，**主要通过呼吸道、破损的皮肤黏膜和密切接触等方式传播**，以家庭内传播多见。流行地区的人群多为隐性感染，幼年最为敏感。潜伏期长，平均2~5年，长者可达数十年。发病缓慢，病程长，迁延不愈。根据临床表现、免疫病理变化、细菌检查结果等可将大部分患者分为**瘤型麻风**（lepromatous type）和**结核样型麻风**（tuberculoid type）；介于两型之间的少数患者又可再分为两类，即**界限类**与**未定类**，两类可向两型转化。

机体对麻风分枝杆菌感染的免疫主要依靠细胞免疫，其特点与结核免疫相似。

（一）瘤型麻风

为疾病的进行性和严重临床类型，而且传染性强。细菌主要侵犯皮肤、黏膜，严重时累及神经、眼及内脏，病理镜检可见大量麻风细胞和肉芽肿。常在皮肤或黏膜下见有红斑或结节形成，称为**麻风结节**（leproma），是由于机体产生的自身抗体与破损组织抗原形成的免疫复合物沉积而致。面部的结节可融合呈狮面容，是麻风的典型病征。本型麻风患者的T细胞免疫应答有所缺陷，表现为细胞免疫低下或免疫抑制，巨噬细胞活化功能低，超敏反应皮肤试验（麻风菌素试验）阴性，故麻风分枝杆菌能在体内持续繁殖。如不进行及时有效的治疗，患者往往发展至最终死亡。

（二）结核样型麻风

此型麻风常为自限性疾病，较稳定，损害可自行消退。细菌侵犯真皮浅层，病变主要在皮肤，早期病变为小血管周围淋巴细胞浸润，以后出现上皮样细胞和多核巨细胞浸润，也可累及神经，使受累处皮肤丧失感觉。患者体内不易检出麻风分枝杆菌，故传染性小。患者的细胞免疫正常，麻风菌素试验反应阳性。

三、微生物学检查法

麻风病的临床表现和类型多，易与其他类似疾病相混淆，所以实验诊断有实际意义。

（一）涂片染色镜检

可从患者鼻黏膜或皮肤病变处取刮取物作涂片，抗酸染色法检查有无排列成束的抗酸性杆菌存在。一般瘤型和界限类患者标本在细胞内找到抗酸染色阳性杆菌有诊断意义，而结核样型患者标本中则很难找到抗酸阳性杆菌。也可以用金胺染色荧光显微镜检查以提高阳性率。病理活检也是较好的诊断方法。

（二）麻风菌素试验

麻风菌素试验的应用原理和结核菌素试验相同。因麻风分枝杆菌至今不能人工培养，因此麻风菌素常由麻风结节病变组织制备。此试验在诊断上意义不大，因为大多数正常人对其呈阳性反应，但可用于评价麻风患者的细胞免疫状态，瘤型麻风患者因有免疫抑制而呈阴性反应。

四、防治原则

预防主要依靠早期发现、早期隔离及早期治疗患者，特别是对密切接触者要做定期检查。目前尚无特异性的疫苗。因麻风分枝杆菌与结核分枝杆菌有共同抗原，在某些麻风病高发国家

笔记

和地区用卡介苗来预防麻风病，收到一定效果。

治疗麻风的药物主要是砜类，如氨苯砜、苯丙砜、醋氨苯砜等。利福平也有较强的抗麻风分枝杆菌作用。为防止耐药性产生，应采用多种药联合治疗。

第三节 其他分枝杆菌

除上述结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌是毒力强的致病菌外，其他一些分枝杆菌对人大多为机会致病菌。

一、牛分枝杆菌

牛分枝杆菌在生长特性、化学组成及毒力等方面与结核分枝杆菌极为相似。该菌本为牛的致病菌，引起牛的结核感染，而人由于食人未经消毒或已污染了此菌的牛乳也可被感染。牛分枝杆菌一般不引起肺部感染，而主要引起髋关节、膝关节及脊椎部骨髓病变及淋巴结感染。但如由呼吸道吸入，亦可发生与结核分枝杆菌完全相同的感染，难以区别。预防牛结核分枝杆菌对人的感染的关键是控制好作为传染源的感染牛（结核菌素试验阳性），以及对牛奶进行严格的消毒和管理。

二、非结核分枝杆菌

除上述结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌、牛分枝杆菌以外的分枝杆菌群统称为**非结核分枝杆菌**（nontuberculosis mycobacteria），亦称非典型分枝杆菌（atypical mycobacteria）。此类菌多存在于自然界、水及土壤等环境中，故亦称**环境分枝杆菌**（environmental mycobacteria）。此类细菌的形态染色特性酷似结核分枝杆菌，但其毒力较弱，生化反应各不相同，可资鉴别。其中有些菌种可引起人类结核样病变、小儿淋巴结炎和皮肤病等，是机会致病菌。

1959 年 Runyon 根据非结核分枝杆菌产生色素情况、生长速度和生化反应等特点，可将其分为 4 组：①**光产色菌**（*photochromogen*）：本组菌的特点是生长缓慢，菌落光滑，在暗处菌落呈奶油色，接触光线 1 小时后菌落呈橘黄色。其中堪萨斯分枝杆菌（*M. kansas*）可引起人类肺结核样病变；海分枝杆菌（*M. marinum*）在水中可通过擦伤的皮肤黏膜引起人的鼻黏膜及手指、脚趾等感染，呈结节及溃疡病变。②**暗产色菌**（*scotochromogen*）：这类细菌培养菌落光滑，在暗处培养时菌落呈橘黄色，长时期曝光培养呈赤橙色。对人类致病菌有瘰疬分枝杆菌（*M. scrofulaceum*），常引起儿童的颈部淋巴结炎。③**不产色菌**（*nonchromogen*）：通常不产生色素。其中对人类有致病性的是鸟－胞内分枝杆菌（*M. avium-intracellulare*）和堪萨斯分枝杆菌（*M. kansasii*），可引起结核样病变，多见于肺和肾。鸟－胞内分枝杆菌还是艾滋病患者常见的机会致病菌，且易发生播散。④**快速生长菌**（*rapid growers*）：发育迅速，25~42℃均可生长，分离培养 5~7 天即可见到粗糙型菌落。对人致病的有偶发分枝杆菌（*M. fortuitum*）和龟分枝杆菌（*M. helonei*），引起皮肤创伤后脓肿；溃疡分枝杆菌（*M. ulcerans*）由于能产生毒素，可引起人类皮肤无痛性坏死溃疡；耻垢分枝杆菌（*M. smegmatis*）不致病，常存在于阴部，查粪、尿标本中结核分枝杆菌时应加以区别。

值得指出的是，目前我国结核病患者中非结核分枝杆菌菌株的分离阳性率为 5%~10%，包括鸟－胞内分枝杆菌、偶发分枝杆菌、瘰疬分枝杆菌、蟾蜍分枝杆菌和土分枝杆菌等，且这些分枝杆菌对常用抗结核药物常易产生耐药性，应引起足够重视。

非结核分枝杆菌有无致病性可采用抗煮沸实验加以鉴别。非致病性菌株煮沸 1 分钟即失去抗酸性，而致病菌株能耐 10 分钟，有的致病菌株高压灭菌亦不失去抗酸性。除热触酶试验外，烟酸试验、硝酸盐还原试验也可用于不同分枝杆菌的鉴别。实验动物中，豚鼠、家兔对非结核分

笔记

枝杆菌不敏感，而对结核分枝杆菌比较敏感。

许多非结核分枝杆菌对常用的异烟肼、链霉素等耐药，但对利福平有一定敏感性，现主张利福平、异烟肼、乙胺丁醇联合用药以提高疗效。

（徐志凯）

笔记

第十四章　嗜血杆菌属

嗜血杆菌属(*Haemophilus*)是一类革兰阴性小杆菌，常呈多形态性，无鞭毛、无芽胞。该属细菌共有 17 个种。在人工培养时由于必须提供新鲜血液或血液成分才能生长，故名嗜血杆菌。对人具有致病的嗜血杆菌除**流感嗜血杆菌**(*H. influenzae*)外，还有**杜克嗜血杆菌**(*H. ducreyi*)和**埃及嗜血杆菌**(*H. aegyptius*)。杜克嗜血杆菌引起性病软性下疳；埃及嗜血杆菌引起流行性结膜炎和儿童巴西紫癜热。其余嗜血杆菌如**副流感嗜血杆菌**(*H. parainfluenzae*)、**嗜沫嗜血杆菌**(*H. aphrophilus*)和**溶血性嗜血杆菌**(*H. paraphrophilus*)在细菌性心内膜炎患者或混合感染患者体内偶有发现。

流感嗜血杆菌

流感嗜血杆菌俗称**流感杆菌**，是嗜血杆菌属中对人有致病性的最常见细菌。该菌是波兰细菌学家 Pfeiffer 于 1892 年流感世界大流行时，首先从流感患者鼻咽部分离到的，当时认为该菌是流感的病原体，为此而得名。直至 1933 年 Smith 将流感病毒分离成功，才确定了流感的真正病原，但流感嗜血杆菌这一错名却仍沿用至今，只是此菌是流感时继发感染的常见细菌。现知该菌还可引起小儿急性脑膜炎、鼻咽炎、中耳炎等化脓性疾病。流感嗜血杆菌是第一个被成功全基因组测序的细菌。

一、生物学性状

1. 形态结构　革兰阴性小杆菌或球杆菌，大小为宽 0.3~0.4μm，长 1.0~1.5μm。在新鲜的感染病灶标本中，形态呈一致的小球杆状；在恢复期病灶或长期人工培养物中常呈球杆状、长杆状和丝状等多形态。菌体的形态与菌龄和培养基关系密切。该菌基因组具有多态性，但来源不同的临床株其氨基酸序列具有同源性，包括毒力因子。流感嗜血杆菌多数菌株有菌毛。**有毒菌株在含脑心浸液的血琼脂培养基上生长 6~18 小时形成明显的荚膜**，但在陈旧培养物中往往丧失荚膜；**上呼吸道正常菌群中的绝大多数流感嗜血杆菌是无荚膜的**。无鞭毛，也不形成芽胞。

2. 培养特性　需氧或兼性厌氧，培养较困难，最适生长温度为 35~37℃。由于该菌氧化还原酶系统不完善，**生长时需要“X”和“V”两种生长辅助因子**。“**X**”因子存在于血红蛋白中，是血红素及其衍生物，可耐高温，120℃ 30 分钟不被破坏，是细菌合成过氧化物酶、细胞色素氧化酶等呼吸酶的辅基。“V”因子存在血液中，是辅酶Ⅰ或Ⅱ，在细菌呼吸中起递氢体作用，耐热性稍差，120℃ 15 分钟可被破坏。流感嗜血杆菌在**巧克力色血平板**上生长良好，是因为在制备培养基加热时，红细胞膜上 V 因子抑制物被破坏，V 因子充分释放并发挥作用。培养 18~24 小时，菌落微小，无色，透明似露珠，48 小时后形成灰白色较大的圆形、透明菌落，无溶血。如将流感嗜血杆菌与金黄色葡萄球菌于血平板上共同培养时，在金黄色葡萄球菌菌落周围的流感嗜血杆菌菌落较大，离金葡菌菌落越远的越小，此现象称为“**卫星现象**(satellite phenomenon)”。这是由于金黄色葡萄球菌能合成较多的 V 因子，并弥散到培养基里，可促进流感嗜血杆菌生长之故。该现象有助于流感嗜血杆菌的鉴定。

3. 生化反应与抗原结构　流感嗜血杆菌能分解葡萄糖、蔗糖，不发酵乳糖、甘露醇，对半乳糖、果糖和麦芽糖的发酵不稳定，一般粗糙型菌株比有荚膜菌株分解糖的能力强。

流感嗜血杆菌主要抗原是荚膜多糖抗原和菌体抗原。**荚膜多糖抗原具有型特异性，根据此抗原，可将流感嗜血杆菌分为 a~f 6 个血清型，其中 b 型致病力最强，也是引起儿童感染最常见**

笔记

的菌型。流感嗜血杆菌与肺炎链球菌的荚膜多糖有部分共同，如 b 型与肺炎链球菌 15 型 A、35 型 B、6 型和 29 型之间有交叉反应。菌体抗原主要指外膜蛋白抗原，特异性不强。

4. 抵抗力　流感嗜血杆菌抵抗力较弱，对热和干燥均敏感，56℃加热 30 分钟可被杀死。在干燥痰中 48 小时内死亡。对常用消毒剂也较敏感。氨苄西林和氯霉素的耐药性由质粒控制，可在细菌间转移。

二、致病性与免疫性

流感嗜血杆菌寄居于正常人上呼吸道。通常以冬季带菌率较高，发病也增多。在小儿，每年由 b 型流感嗜血杆菌引起的严重病例至少 300 万例，死亡 40 万 ~70 万例。以 4~18 个月儿童发病率最高，3 个月以下的婴儿和 6 岁以后的儿童发病减少。在发达国家内由 b 型流感嗜血杆菌引起的病例，以脑膜炎多见，在发展中国家该菌常引起急性呼吸道感染，每年可引起约 200 万 ~ 300 万例肺炎。

该菌的主要致病物质为荚膜、菌毛、内毒素和 IgA 蛋白酶等。**荚膜是本菌的主要毒力因子，**具有抗吞噬作用；菌毛具有黏附和定植于细胞的作用；本菌内毒素致病作用尚不清楚；IgA 蛋白酶能水解 sIgA，可降低黏膜局部免疫力。**流感嗜血杆菌所致疾病包括原发感染和继发感染。原发性感染（外源性）多为有荚膜 b 型菌株引起的急性化脓性感染**，如化脓性脑膜炎、鼻咽炎、咽喉会厌炎、化脓性关节炎、心包炎等，严重的引起菌血症，以小儿多见。**继发性感染（内源性）多由呼吸道寄居的无荚膜菌株引起**。常继发于流感、麻疹、百日咳、结核病等，临床表现有慢性支气管炎、鼻窦炎、中耳炎等，以成人多见。**无荚膜菌株为上呼吸道正常菌群成员**。

在敏感宿主体内的 b 型流感嗜血杆菌是否使宿主成为携带者和刺激机体产生保护性抗体或者引起侵袭性感染，机制至今还不清楚。

机体对流感嗜血杆菌以体液免疫为主。3 个月以内的婴儿由于从母亲获得血清抗体而很少感染流感嗜血杆菌，随着月龄的增长抗体水平逐渐下降，感染发生的几率增高，且通常是无症状，也可发展成呼吸道疾病或脑膜炎。荚膜多糖特异性抗体对机体有保护作用，可促进吞噬细胞的吞噬作用，能激活补体发挥溶菌作用。菌体外膜蛋白抗体也有促进补体介导的调理作用。

三、微生物学检查法

1. 直接检测　根据临床症状采集相应标本，如脑脊液、鼻咽分泌物、痰、脓汁、血液及关节抽吸物等。直接涂片染色镜检，对脑膜炎、关节炎、下呼吸道感染有快速诊断价值。

2. 分离培养　可将标本接种于巧克力色琼脂平板或含脑心浸液的血琼脂，根据培养特性、菌落形态、卫星现象、生化反应、荚膜肿胀试验等进行鉴定。乳胶凝集试验、免疫荧光及荚膜肿胀试验检测荚膜抗原，有助于脑膜炎的快速诊断。

3. 抗原检测　通常检测体液或脓汁中的 b 型多糖抗原，有助于快速诊断，特别是对使用了抗生素治疗的病人标本。用包被兔抗体的乳胶微粒凝集反应鉴定 b 型抗原是最常用的。免疫荧光或荚膜肿胀试验亦可获得较高的阳性结果。

4. 分子生物学技术　PCR 技术用于鉴定临床标本中流感嗜血杆菌，并作为确定分离株的试验。

四、防 治 原 则

有些国家制备 **b 型流感嗜血杆菌荚膜多糖疫苗**进行预防接种，据报道其有效保护率可达 93%。也有将 b 型荚膜多糖疫苗与白喉类毒素或脑膜炎奈瑟菌外膜蛋白制成联合菌苗用于特异性预防。

笔记

治疗可选用广谱抗生素或磺胺类药物，如氨苄西林，但超过25%菌株通过质粒传递产生β-内酰胺酶而具有抗药性。基本上所有菌株对较新的头孢菌素类（先锋霉素类）药物敏感，静脉注射头孢噻肟有很好的效果。快速诊断和抗菌治疗可降低神经和智能缺陷。晚期流行性脑膜炎的突出表现是硬脑膜下积液，需要外科引流。

（廖 芳）

笔记

第十五章　动物源性细菌

以动物作为传染源，能引起动物和人类发生**人兽共患病**（zoonosis）的病原菌称为**动物源性细菌**。动物源性细菌通常以家畜或野生动物作为储存宿主，人类因通过接触病畜及其污染物等途径感染而致病，主要包括布鲁氏菌属、耶尔森菌属、芽胞杆菌属、柯克斯体属、巴通体属、弗朗西斯菌属和巴斯德菌属等。

第一节　布鲁氏菌属

布鲁氏菌属（*Brucellae*）的细菌是一类人兽共患传染病的病原菌，有6个生物种、19个生物型，由英国医师David Bruce首先分离出。本属使人致病的有**羊布鲁氏菌**（*B. melitensis*）、**牛布鲁氏菌**（*B. abortus*）、**猪布鲁氏菌**（*B. suis*）和**犬布鲁氏菌**（*B. canis*），在我国流行的主要是羊布鲁氏菌病，其次为牛布鲁氏菌病。

一、生物学性状

1. 形态与染色　**革兰阴性**短小杆菌。大小为长0.5~1.5μm，宽0.4~0.8μm。无芽胞，无鞭毛，光滑型菌株有微荚膜。

2. 培养特性　**需氧菌**，牛布鲁氏菌在初分离时需5%~10% CO_2。营养要求较高，在普通培养基上生长缓慢，若加入血清或肝浸液可促进生长。最适生长温度为35~37℃，最适pH为6.6~6.8。经37℃培养48小时可长出微小、透明、无色的光滑型（S）菌落，经人工传代培养后可转变成粗糙型（R）菌落。布鲁氏菌在血琼脂平板上不溶血，在液体培养基中可形成轻度混浊并有沉淀。

3. 生化反应　大多能分解尿素和产生 H_2S。根据产生 H_2S 的量和在含碱性染料培养基中的生长情况，可鉴别羊、牛、猪等三种布鲁氏菌。

4. 抗原构造与分型　布鲁氏菌含有两种抗原物质，即M抗原（羊布鲁氏菌菌体抗原）和A抗原（牛布鲁氏菌菌体抗原）。两种抗原在不同的布鲁氏菌中含量不同，根据两种抗原量的比例不同，可对菌种进行区别，如牛布鲁氏菌A:M = 20:1，而羊布鲁氏菌A:M=1:20，猪布鲁氏菌A:M=2:1。用A与M因子血清进行凝集试验可以鉴别三种布鲁氏菌（表15-1）。

表15-1　主要布鲁氏菌的特性与鉴别

菌种	CO_2 需要	尿酶试验	H_2S 产生	含染料培养基中生长		凝集试验	
				复红（1:50 000）	硫堇（1:20 000）	抗A因子	抗M因子
羊布鲁氏菌	–	不定	–	+	+	–	+
牛布鲁氏菌	+	+	+	+	–	+	–
猪布鲁氏菌	–	+	+/–	–	+	+	+

5. 抵抗力　抵抗力较强，在土壤、毛皮、病畜的脏器和分泌物、肉和乳制品中可生存数周至数月。但在湿热60℃、20分钟，日光直接照射下20分钟可死亡；对常用消毒剂和广谱抗生素均较敏感。牛奶中的布鲁氏菌可用巴氏消毒法灭菌。

笔记

二、致病性与免疫性

1. 致病物质 主要是**内毒素**。此外，**微荚膜与侵袭性酶**（透明质酸酶、过氧化氢酶等）增强了该菌的侵袭力，使细菌能突破皮肤、黏膜的屏障作用进入宿主体内，并在机体脏器内大量繁殖和快速扩散入血流。

2. 所致疾病 **布鲁氏菌感染家畜引起母畜流产**，病畜还可表现为睾丸炎、附睾炎、乳腺炎、子宫炎等，**人类主要通过接触病畜或接触被污染的畜产品，经皮肤、黏膜、眼结膜、消化道、呼吸道等不同途径感染**。

布鲁氏菌侵入机体经1~6周的潜伏期，此期细菌被中性粒细胞和巨噬细胞吞噬，成为**胞内寄生菌**，随淋巴流到局部淋巴结生长繁殖并形成感染灶。当细菌繁殖达一定数量，突破淋巴结而侵入血流，出现**菌血症**。随后细菌进入肝、脾、骨髓和淋巴结等脏器细胞，发热也渐消退。细菌在脏器细胞内繁殖到一定程度可再度入血，又出现菌血症而致体温升高。如此反复形成的菌血症，使患者的热型呈波浪式，临床上称为**波浪热**。感染**易转为慢性**，在全身各处引起迁徙性病变，伴随发热、关节痛和全身乏力等症状，体征有肝、脾肿大。病程一般持续数周至数月。

布鲁氏菌的致病过程与该菌引起的Ⅳ型超敏反应有关；菌体抗原成分与相应抗体形成的免疫复合物，可导致急性炎症和坏死，病灶中有大量中性粒细胞浸润，可能是一种Ⅲ型超敏反应（Arthus反应）。

3. 免疫性 机体感染布鲁氏菌后，以**细胞免疫**为主。病后机体产生的IgM和IgG型抗体，可发挥免疫调理作用。各菌种和生物型之间可出现交叉免疫。过去认为当机体内有布鲁氏菌存在时，对再次感染才有较强的免疫力。但近年来认为随着病程的延续和机体免疫力的增强，体内的布鲁氏菌不断被杀灭，因此体内可变为无菌免疫。

三、微生物学检查法

1. 标本采集 常用血液标本，急性期血培养阳性率可高达70%。在急性期、亚急性期患者可取骨髓分离。病畜的子宫分泌物、羊水，流产动物的肝、脾、骨髓等也可作为分离培养的标本。

2. 分离培养与鉴定 将标本接种于双相肝浸液培养基，置37℃、5%~10% CO_2 孵箱中培养。菌落大多在4~7天形成，若30天时仍无菌生长可报告为阴性。若有菌生长，可根据涂片染色镜检，CO_2 的要求，H_2S 产生，染料抑菌试验，玻片血清凝集等确定型别。

3. 血清学试验

（1）凝集试验：发病1~7天后血清中开始出现IgM抗体，将患者血清作倍比稀释，标准菌量为 1×10^9 个/ml，进行玻片凝集试验，1∶200有诊断意义。用胶乳凝集试验可在6分钟内判定结果，方法简易可靠。

（2）补体结合试验：一般发病3周后出现IgG抗体，由于此抗体能维持较长时间，故对诊断慢性布鲁氏菌病意义较大。此试验特异性高，试验结果以1∶10为阳性。

4. 皮肤试验 取布鲁氏菌素（brucellin）或布鲁氏菌蛋白提取物0.1ml作皮内注射，24~48小时后观察结果，局部红肿浸润直径1~2cm者为弱阳性，> 2~3cm为阳性，> 3~6cm为强阳性。若红肿在4~6小时内消退者为假阳性。皮试阳性可诊断慢性或曾患过布鲁氏菌病。

四、防 治 原 则

控制和消灭家畜布鲁氏菌病，切断传播途径和免疫接种是三项主要的预防措施。**免疫接种以畜群为主，疫区人群也应接种减毒活疫苗**，有效期约一年。

治疗时，若是急性期和亚急性期患者，WHO推荐的首选方案是利福平与多西环素联合使用，或四环素与利福平联用；神经系统受累者选用四环素合用链霉素。若是慢性期患者，除采用

笔记

上述病原治疗外，尚需进行脱敏和对症治疗。

第二节 耶尔森菌属

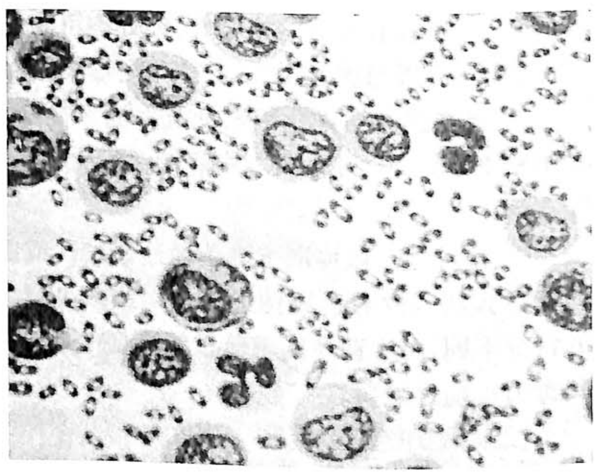
耶尔森菌属（*Yersinia*）属于**肠杆菌科**，是一类**革兰阴性**小杆菌，现已知13个种和亚种。其中鼠疫耶尔森菌、小肠结肠炎耶尔森菌小肠结肠炎亚种和假结核耶尔森菌假结核亚种对人类的致病性已明确。本属细菌通常先引起啮齿动物、家畜和鸟类等动物感染，**人类通过接触已感染的动物、食入污染食物或节肢动物叮咬等途径而被感染。**

一、鼠疫耶尔森菌

鼠疫耶尔森菌（*Y. pestis*）俗称**鼠疫杆菌**，是**鼠疫**的病原菌。鼠疫是一种**自然疫源性的烈性传染病**，人类历史上曾发生过三次世界性大流行，每次大流行的菌种在代谢特点方面都有所差别，据此又分别命名为三种生物型，即古典型、中世纪型和东方型。**人类鼠疫是被染疫的鼠蚤叮咬而受染**或因直接接触、剥食了染有鼠疫的动物（旱獭、绵羊等）。1989—1998年世界各地报告鼠疫病例共5440余例，死亡681人。1994年印度也出现了鼠疫的暴发，死亡率高达10%~30%。鼠疫是我国重点监控的自然疫源性传染病，近数十年我国在防治鼠疫方面已经取得显著成绩，但一些局部地区尚有鼠疫的散在发生。

（一）生物学性状

1. 形态与染色 为**两端钝圆，两极浓染的卵圆形短小杆菌**（图15-1），**革兰染色阴性**。有荚膜，无鞭毛，无芽胞。在不同的检材标本或培养标本中，表现出不同形态。死于鼠疫的尸体或动物新鲜内脏制备的印片或涂片，形态典型。但在腐败材料、陈旧培养物或生长在含高盐的培养基上则呈**多形态性**，可见菌体膨大成球形、球杆形或哑铃状等，或见到着色极浅的细菌轮廓，称**菌影**（ghost）。


图15-1 鼠疫耶尔森菌（两极浓染）

2. 培养特性 兼性厌氧，**最适生长温度为27~30℃**，pH为6.9~7.2。在含血液或组织液的培养基上生长，24~48小时可形成细小、黏稠的粗糙型菌落。在肉汤培养管底部开始出现絮状沉淀物，48小时肉汤表面形成**菌膜**，稍加摇动菌膜呈“**钟乳石**”状下沉，此特征有一定鉴别意义。

3. 抗原结构 鼠疫耶尔森菌的抗原结构复杂，至少有18种抗原，重要的有**F1、V/W、外膜蛋白和鼠毒素等四种抗原**（图15-2）。

（1）F1（fraction 1）抗原：是鼠疫耶尔森菌的**荚膜抗原**，由110kb质粒pMT编码，具有抗吞噬的作用，故与其毒力相关。F1抗原的抗原性强，其相应抗体有免疫保护作用。但F1抗原是一种不耐热的糖蛋白，100℃ 15分钟即失去抗原性。

（2）V/W抗原：由70~75kb的质粒pLcr编码。V抗原存在于细胞质中，为可溶性蛋白。W抗原位于菌体表面，是一种脂蛋白；两种抗原总是同时存在，**具有抗吞噬作用**，使细菌具有在细胞内存活的能力，与细菌毒力有关。

（3）外膜蛋白（outer membrane protein，OMP）：其编码基因与V/W基因存在于pLcr质粒上，这些外膜蛋白能使细菌在突破宿主的防御机制，导致机体发病等方面具有重要作用。

笔记

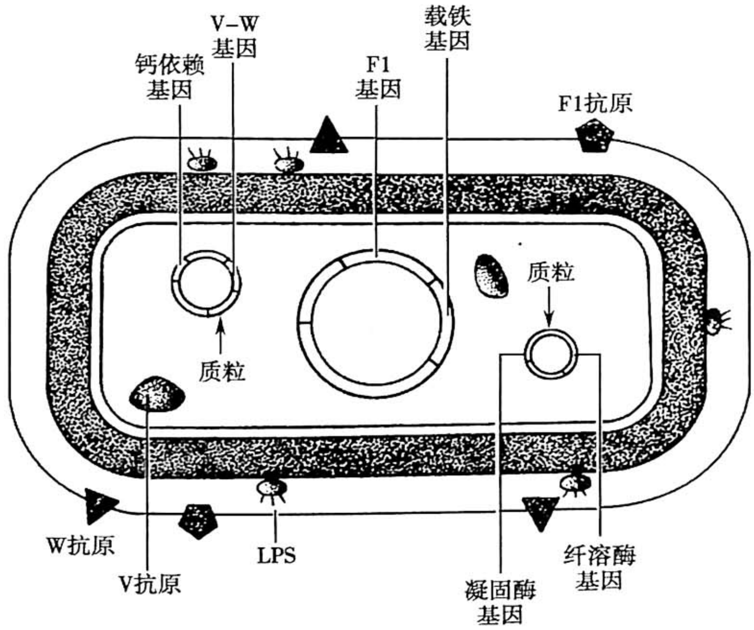


图 15-2 鼠疫耶尔森菌毒力因子的基因模式图

(4) 鼠毒素(murine toxin,MT):对鼠类有剧烈毒性的外毒素,由质粒 pMT 编码产生,为可溶性蛋白,1μg 即可使鼠致死,主要作用在心血管系统,引起毒血症、休克。但对人的致病作用尚不清楚。MT 具有良好的抗原性,经处理可制成类毒素,用于免疫动物制备抗毒素。

(5) 内毒素:其性质与肠道杆菌内毒素相似,可致机体发热,产生休克和 DIC 等。

4. 抵抗力 对理化因素抵抗力弱。在湿热 70~80℃ 10 分钟或 100℃ 1 分钟死亡,10g/L 苯酚溶液 20 分钟内可将痰液中病菌杀死,但在自然环境的痰液中能存活 36 天,在蚤粪和土壤中能存活 1 年左右。

5. 变异性 鼠疫耶尔森菌通过自发性或诱发性突变及基因转移等机制发生变异,其生化特性、毒力、耐药性和抗原构造等均可出现变异菌株。与多数肠道菌光滑型(S 型)菌落致病性强的特征不同,野生菌株的菌落呈粗糙型(R 型),毒力强。经人工传代培养后菌落逐渐转变为 S 型,其毒力也随之减弱。

(二) 致病性与免疫性

1. 致病物质 鼠疫耶尔森菌的致病性主要与 **F1 抗原**、**V/W 抗原**、**外膜抗原及鼠毒素**等相关。鼠毒素主要对鼠类致病,但只有当细菌自溶裂解后才释放。鼠疫耶尔森菌的毒力很强,少量细菌即可使人致病。

2. 所致疾病 鼠疫是**自然疫源性传染病**。**啮齿类动物(野鼠、家鼠、黄鼠等)是鼠疫耶尔森菌的贮存宿主,鼠蚤为其主要传播媒介**。鼠疫一般先在鼠类间发病和流行,通过鼠蚤的叮咬而传染人类,当大批病鼠死亡后,失去宿主的鼠蚤转向人群或其他动物(如旱獭、绵羊等)。人患鼠疫后,又可通过人蚤或呼吸道等途径在人群间流行。临床常见有**腺鼠疫**、**肺鼠疫和败血症型鼠疫**。

(1) **腺鼠疫**:以急性淋巴结炎为特点。鼠疫耶尔森菌能在吞噬细胞内生长繁殖,沿淋巴流到达局部淋巴结,**多在腹股沟和腋下引起严重的淋巴结炎**,局部肿胀、化脓和坏死。

(2) **肺鼠疫**:吸入染菌的尘埃则引起原发性肺鼠疫,也可由腺鼠疫或败血症型鼠疫蔓延而致继发性肺鼠疫。病人高热寒战,咳嗽、胸痛、咯血,病人多因呼吸困难或心力衰竭而死亡。死亡病人的皮肤常呈黑紫色,故有"**黑死病**"之称。

笔记

(3) **败血症型鼠疫**:重症腺鼠疫或肺鼠疫患者的病原菌可侵入血流,导致败血症型鼠疫,体

温升高至 39~40℃，发生休克和 DIC，皮肤黏膜见出血点及瘀斑，全身中毒症状和中枢神经系统症状明显，死亡率高。

3. 免疫性　感染鼠疫耶尔森菌后能**获得牢固免疫力**，再次感染罕见。主要产生针对 F1 抗原、V/W 抗原的抗体等，具有调理促吞噬、凝集细菌及中和毒素等作用。

（三）微生物学检查法

1. 标本的采集　因鼠疫为**法定甲类传染病**，标本应送到有严格防护措施的专用实验室检测。对疑似鼠疫的患者，应在服用抗菌药物前，按不同症状或体征，可采取淋巴结穿刺液、痰、血液、咽喉分泌物等。人或动物尸体应取肝、脾、肺、淋巴结和心血等，分别装入无菌容器。腐败尸体需取骨髓。

2. 直接涂片镜检　检材直接涂片或印片，进行革兰染色或亚甲蓝染色，镜检观察典型形态与染色性。免疫荧光试验可用于快速诊断。

3. 分离培养与鉴定　将标本接种于血琼脂平板或 0.025% 亚硫酸钠琼脂平板等，根据菌落特征，挑取可疑菌落进行涂片镜检，生化试验，血清凝集试验等进一步鉴定。国内外学者还采用噬菌体裂解试验，毒力因子，菌体脂肪酸成分等分析方法，对鼠疫耶尔森菌进行菌株分型。

4. 血清学试验　在不能获得鼠疫耶尔森菌的情况下，可检测人或动物血清中的鼠疫抗体滴度。同时，也可以采用反向间接血凝试验、ELISA 等方法，检查有无鼠疫耶尔森菌抗原的存在。

5. 检测核酸　采用 PCR 技术检测鼠疫耶尔森菌核酸，具有快速、敏感的特点，可用于鼠疫的流行病学调查和紧急情况下的检测。

（四）防治原则

灭鼠、灭蚤是切断鼠疫传播环节，消灭鼠疫源的根本措施。一旦发现患者应尽快隔离，以阻断人间鼠疫进一步流行。另外，警惕生物武器，加强国境、海关检疫。与患者接触者可口服磺胺嘧啶，对具有潜在感染可能性的人群进行预防接种。我国目前使用**无毒株 EV 活菌苗**，接种方法为皮上划痕、皮下注射或皮内注射。免疫力可持续 8~10 个月。

凡对可疑的鼠疫病例，不论何种临床病型，早期应用抗生素是降低病死率的关键。腺鼠疫常用链霉素加磺胺类药物治疗；肺鼠疫和败血症鼠疫常用链霉素或阿米卡星加四环素治疗。

二、小肠结肠炎耶尔森菌小肠结肠炎亚种

小肠结肠炎耶尔森菌小肠结肠炎亚种（*Y. enterocolitica subsp. enterocolitica*）是引起人类严重的**小肠结肠炎**病原菌。本菌天然定植在多种动物体内，如鼠、兔、猪等，通过污染食物（牛奶、肉类等）和水，经**粪－口途径感染或因接触染疫动物而感染**。近年来本菌中某些血清型引起的肠道感染正逐渐上升，受到世界各国的普遍重视。

革兰阴性球杆菌，偶见两端浓染。无芽胞、无荚膜，25℃培养时有周身鞭毛，但 37℃培养时则很少或无鞭毛。营养要求不高，兼性厌氧。耐低温，在 4℃能生长，但最适温度为 20~28℃，最适 pH 7.6。在普通琼脂培养基上生长良好。在肠道菌选择培养基上培养可形成无色半透明、扁平的小菌落。根据菌体 O 抗原可将本菌分为 50 多种血清型，但仅几种血清型与致病有关，且致病型别各地区也不同。我国主要为 O9、O8、O5 和 O3 等。此外有毒力菌株大都具有 V 和 W 抗原、外毒素蛋白等。

本菌为一种肠道致病菌，具有侵袭性及产毒素性。V-W 抗原具有抗吞噬作用。O3、O8、O9 等菌株产生耐热性肠毒素，与大肠埃希菌肠毒素 ST 相似。另外，某些菌株的 O 抗原与人体组织有共同抗原，可刺激机体产生自身抗体，引起自身免疫性疾病。

人类通过食用该菌污染的食物和水而受染，潜伏期 3~7 天，以小肠、结肠炎为多见，临床表现以发热，腹痛和腹泻（水样便或血样便）为主，病程 3~4 天，常呈自限性。而有些患者可发展为自身免疫并发症的肠道外感染，如关节炎、结节性红斑等。败血症非常少见，多见于糖尿病、艾

笔记

滋病或肿瘤病等患者。

本菌引起的肠道感染常呈自限性，不需要做特殊治疗。但对于肠道外感染包括败血症患者的治疗，临床上常采用广谱的头孢菌素与氨基苷类联用，取得较好的疗效。

三、假结核耶尔森菌假结核亚种

假结核耶尔森菌假结核亚种（*Y.pseudotuberculosis subsp. pseudotuberculosis*）存在于多种动物的肠道中，人类感染较少，主要通过食用患病动物污染的食物而感染。由于该菌在动物感染的脏器中形成**粟粒状结核结节**，在人的感染部位形成**结核样肉芽肿**，故称假结核耶尔森菌。

本菌为革兰阴性，无荚膜、无芽胞。本菌的生化反应与鼠疫耶尔森菌相似，根据菌体 O 抗原将细菌分为 6 个血清型，引起人类感染的主要是 O1 血清型。

假结核耶尔森菌对豚鼠、家兔、鼠类等有很强的致病性，患病动物的肝、脾、肺和淋巴结等可形成多发性粟粒状结核结节。人类感染多为胃肠炎，肠系膜淋巴结肉芽肿，回肠末端炎等，后者的症状与阑尾炎相似，多发生于 5~15 岁的学龄儿童，易发展为败血症。少数表现为高热、紫癜，并伴有肝、脾肿大，类似肠伤寒的症状。也可发生呈结节性红斑等自身免疫病。

临床取粪便、血液等标本进行微生物学检查。多采用肠道选择性鉴别培养基进行分离培养，根据生化反应及动力等，作出初步判断，最后用血清学试验进行鉴定。治疗本菌感染是可采用广谱抗生素。

第三节 芽胞杆菌属

芽胞杆菌属（*Bacillus*）的细菌是一群**需氧，能形成芽胞的革兰阳性的大杆菌**。其中炭疽芽胞杆菌是引起动物和人类**炭疽病**的病原菌，**蜡样芽胞杆菌**可产生肠毒素引起人**食物中毒**。其他大多为腐生菌，主要以芽胞形式存在于土壤、水和尘埃中，一般不致病，当机体免疫力低下时，如枯草芽胞杆菌等偶尔可引起结膜炎、虹膜炎及全眼炎等。此外，因芽胞对外环境抵抗力强，这些腐生菌也是实验室及制剂生产车间的常见污染菌。

一、炭疽芽胞杆菌

炭疽芽胞杆菌（*B. anthracis*）引起**炭疽病**（anthrax），是芽胞杆菌属中主要的致病菌，也是人类历史上第一个被发现的病原菌。**牛羊等食草动物的发病率最高，人可通过摄食或接触患炭疽病的动物及畜产品而感染。**

（一）生物学性状

1. 形态与染色 致病菌中最大的**革兰阳性粗大杆菌**，宽 1~3μm，长 5~10μm。两端截平，无鞭毛。新鲜标本直接涂片时，常单个或呈短链；经培养后则形成**竹节样**排列的长链（图 15-3）。在**有氧条件下形成椭圆形芽胞**，位于菌体中央。有毒菌株在机体内或含血清的培养基中可形成荚膜。

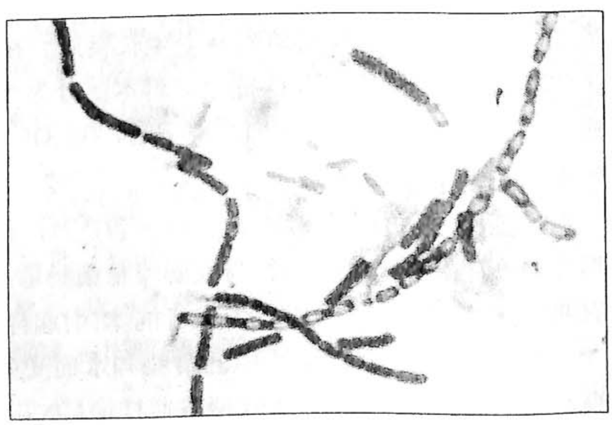


图 15-3 炭疽芽胞杆菌（×1000）

2. 培养特性 需氧或兼性厌氧，最适温度为 30~35℃，在普通琼脂培养基上培养 24 小时，形成灰白色**粗糙型菌落**，低倍镜观察可见卷发状边缘。在血琼脂平板上不溶血；在肉汤培养基中由于形成长链而呈**絮状沉淀生长**。在明胶培养基中经 37℃培养 24 小时可使表

面液化呈漏斗状，由于细菌沿穿刺线向四周扩散而成为倒松树状。有毒菌株在含 $NaHCO_3$ 的血琼脂平板上，置 5% CO_2 孵箱 37℃孵育 24~48 小时可产生荚膜，变为黏液性菌落。

3. 抗原结构　炭疽芽胞杆菌的抗原分为两部分，一部分是结构抗原，包括荚膜、菌体和芽胞等抗原成分；另一部分是炭疽毒素复合物。

(1) **炭疽毒素**：由**保护性抗原**、**致死因子**和**水肿因子**三种蛋白质组成的复合物，由质粒 PXO1 的基因（*pagaA*、*cya*、*lef*）编码，注射给实验动物可出现炭疽病的典型中毒症状。但致死因子和水肿因子单独存在时则不会发挥生物学活性，二者必须与保护性抗原结合后才能引起实验动物的水肿和致死。炭疽毒素具有抗吞噬作用和免疫原性。

(2) 荚膜多肽抗原：由 D- 谷氨酸多肽所组成，由质粒 PXO2 的基因（*capB*|*capC* 和 *capA*）编码。具抗吞噬作用，与细菌毒力有关。

(3) 芽胞抗原：由芽胞的外膜、皮质等组成的芽胞特异性抗原，具有免疫原性和血清学诊断价值。

(4) 菌体多糖抗原：由 D- 葡萄糖胺、D- 半乳糖组成，与毒力无关。由于耐热，此抗原在病畜皮毛或腐败脏器中经长时间煮沸仍可与相应抗体发生沉淀反应，称 **Ascoli 热沉淀反应**，有利于对炭疽芽胞杆菌病原的流行病学调查。

4. 抵抗力　细菌芽胞在干燥土壤或皮毛中能存活数年至 20 余年，**牧场一旦被污染，传染性可持续数十年**。芽胞对化学消毒剂的抵抗力也很强，如用 5% 苯酚溶液需 5 天才被杀死。但对碘及氧化剂较敏感，1∶2500 碘液 10 分钟、0.5% 过氧乙酸 10 分钟即可杀死。压力蒸汽灭菌法 121℃ 15 分钟能杀灭芽胞。本菌对青霉素、红霉素、氯霉素等均敏感。

（二）致病性与免疫性

1. 致病物质　炭疽芽胞杆菌主要致病物质是**荚膜**和**炭疽毒素**，其致病力取决于生成荚膜和毒素的能力，由质粒 DNA 控制荚膜和炭疽毒素产生。荚膜有抗吞噬作用，有利于细菌在宿主组织内繁殖扩散。炭疽毒素是造成感染者致病和死亡的主要原因，毒性作用直接损伤微血管内皮细胞，增加血管通透性而形成水肿，可抑制、麻痹呼吸中枢而引起呼吸衰竭死亡。

2. 所致疾病　炭疽芽胞杆菌主要为食草动物（牛、羊、马等）炭疽病的病原菌，可经多种方式传播，引起人类炭疽病。

(1) **皮肤炭疽**：约占病例的 95% 以上，人因接触患病动物或受染毛皮而引起皮肤炭疽，细菌由颜面、四肢等皮肤小伤口侵入，经 1 天左右局部出现小疖，继而周围形成水疱、脓疮、最后出现坏死和黑色焦痂，故名炭疽。

(2) **肠炭疽**：食入未煮熟的病畜肉类、奶或被污染食物引起肠炭疽，出现连续性呕吐，肠麻痹及血便，但以全身中毒为主，2~3 天死于毒血症。

(3) **肺炭疽**：吸入含有大量病菌芽胞的尘埃可发生肺炭疽。出现呼吸道症状，很快也出现全身中毒症状而死亡。

上述三型均可并发败血症，偶见引起炭疽性脑膜炎，死亡率极高。

3. 免疫性　感染炭疽后**可获得持久性免疫力**。一般认为与机体针对炭疽毒素保护性抗原产生的保护性抗体及吞噬细胞的吞噬功能增强有关。

（三）微生物学检查法

1. 标本的采集　人类皮肤炭疽早期取水疱、脓疱内容物，晚期取血液；肠炭疽取粪便、血液及畜肉等；肺炭疽取痰、病灶渗出液及血液等。**采取标本时要注意个人防护，炭疽动物尸体严禁在室外解剖，避免芽胞污染牧场及环境**，一般在无菌条件下割取耳尖或舌尖组织送检。

2. 直接涂片镜检　取渗出液、血液涂片进行革兰染色，发现有荚膜或呈竹节状排列的革兰阳性大杆菌，或用特异性荧光抗体染色镜检、免疫组化染色技术等，结合临床症状可作出初步诊断。

笔记

3. 分离培养与鉴定 将标本接种于血琼脂平板和碳酸氢钠琼脂平板，孵育后观察菌落，用**青霉素串珠试验**、噬菌体裂解试验等进行鉴定。青霉素串珠试验的原理是炭疽芽胞杆菌在含微量(0.05~0.5U/ml)青霉素的培养基上，其形态变异为大而均匀的圆球形，呈串珠状排列。而其他需氧芽胞杆菌无此现象。

必要时还可以把检材或培养物接种小鼠或豚鼠，2~3天动物发病，在内脏及血液中可检测出带荚膜的炭疽芽胞杆菌。

另外，采用免疫荧光法检测荚膜抗体，ELISA检查炭疽毒素，PCR技术检测核酸。本菌与其他需氧芽胞杆菌的鉴别见表15-2。

表15-2 炭疽芽胞杆菌与其他需氧芽胞杆菌的鉴别

性状	炭疽芽胞杆菌	其他需氧芽胞杆菌
荚膜	+	-
动力	-	+
血平板	不溶血或微溶血	多为迅速而明显溶血
$NaHCO_3$琼脂平板	黏液型菌落(有毒株)	粗糙型菌落
青霉素串珠试验	+	-
噬菌体裂解试验	+	-
动物致病力试验	+	-

(四) 防治原则

重点应放在控制家畜感染和牧场的污染。病畜应严格隔离或处死深埋，死畜严禁剥皮或煮食，必须焚毁或深埋。由于炭疽芽胞杆菌的特殊性，我们应当提高警惕国际上生物恐怖分子利用炭疽芽胞杆菌制造生物恐怖活动。

特异性预防用**炭疽减毒活疫苗**，皮上划痕接种，免疫力可持续1年。接种对象是疫区牧民、屠宰人员、兽医、皮革和毛纺工人等。治疗以青霉素G为首选药物，可与庆大霉素或链霉素联合使用，青霉素过敏者可用环丙沙星及红霉素等。

二、蜡样芽胞杆菌

蜡样芽胞杆菌(*B.cereus*)为革兰阳性大杆菌，芽胞多位于菌体中央或次极端。在普通琼脂平板上生长良好，菌落较大，灰白色，表面粗糙似**融蜡状**，故名。本菌广泛分布于土壤、水、尘埃、淀粉制品、乳和乳制品等食品中，是仅次于炭疽芽胞杆菌的人类和动物的致病菌，可引起**食源性疾病和机会性感染**。

蜡样芽胞杆菌引起的**食物中毒**可分两种类型：①**呕吐型**：由耐热的肠毒素引起，于进食后出现恶心、呕吐症状，严重者偶可出现暴发性肝衰竭；②**腹泻型**：由不耐热肠毒素引起，进食后发生胃肠炎症状，主要为腹痛、腹泻和里急后重，偶有呕吐和发热。此外，该菌有时也是外伤后眼部感染的常见病原菌，引起全眼球炎，治疗不及时易造成失明。在免疫功能低下或应用免疫抑制药的患者中还可引起心内膜炎、菌血症和脑膜炎等。本菌对红霉素、氯霉素和庆大霉素敏感，对青霉素、磺胺类耐药。

第四节 柯克斯体属

笔记

柯克斯体属(*Coxiella*)归属于柯克斯体科，其下只有一个种，即**贝纳柯克斯体**(*C. burnetii*)，

亦称 Q **热柯克斯体**，是 Q 热（query fever）的病原体。Q 热，为疑问热，指原因不明的发热，Burnet 等于 1937 年证明其病原体是一种立克次体，并命名为贝纳柯克斯体，以前将其归类于立克次体目的立克次体科，现归类于**军团菌目**中的柯克斯体科。

一、生物学性状

贝纳柯克斯体形态为**短杆状或球状**，大小为（0.4~1.0）μm×（0.2~0.4）μm，在细胞空泡（吞噬溶酶体）中繁殖。革兰染色阴性，有时亦可呈阳性，**常用 Gimenez 法染色呈鲜红色，Giemsa 法染色呈紫色或蓝色**。**专性细胞内寄生**。**在鸡胚卵黄囊中生长旺盛，能在多种原代及传代细胞内繁殖**。

贝纳柯克斯体抗原相之间存在着可逆性变异，发生变异的主要成分为脂多糖。从动物或蜱组织新分离的贝纳柯克斯体为Ⅰ相，含有大量的脂多糖，毒力强，与革兰阴性菌内毒素作用一致；若经鸡胚或组织细胞传代适应后则变异为Ⅱ相，脂多糖减少，仅为Ⅰ相的 1/10，毒力也相应降低，易被吞噬细胞吞噬。用Ⅱ相贝纳柯克斯体感染动物又可变异为Ⅰ相。

对于大多数理化因素，贝纳柯克斯体的抵抗力要强于立克次体及无芽胞细菌，耐热，需 100℃至少 10 分钟才能杀死。10g/L 苯酚溶液或甲醛溶液灭活需 24 小时。在干燥蜱粪中可保持活性 1.5 年左右。

二、致病性与免疫性

Q 热的**传播媒介是蜱**，贝纳柯克斯体在蜱体内可长期存活，并可经卵传代。蜱叮咬**野生啮齿动物和家畜**使其感染，并且被感染的家畜多数无症状，但却是主要的**传染源**，可通过乳、尿和粪便长期排泄病原体。**人类主要经消化道或偶尔经呼吸道接触而感染**。病人虽然不是传染源，但也有传染给周围人群的可能性。

该菌致病物质是与典型细菌内毒素毒性相似的脂多糖。贝纳柯克斯体某些抗原与相应抗体形成免疫复合物在组织表面沉积，从而引起Ⅲ型变态反应是 Q 热发病的机制之一。

Q 热分**急性**与**慢性**两种。急性人类 Q 热的潜伏期一般为 14~28 天，**症状类似流感或原发型非典型肺炎**，发病突然，高热寒战，常有剧烈头痛、肌肉疼痛和食欲减退，很少出现皮疹。部分严重患者**可并发心包炎和心内膜炎**以及精神与神经等症状。近年慢性发病率日益增高，**病变以心内膜炎为特征**。贝纳柯克斯体感染后还可引起肉芽肿性肝炎。

病后可获得一定的免疫力，以**细胞免疫**为主，体液免疫也有一定的作用。

三、微生物学检查法

该病在早期与流感相似，难以确诊。一般在发热期间，未用抗生素之前采取外周血及其血清标本。豚鼠对贝纳柯克斯体易感，可采用患者血液进行豚鼠腹腔接种，发热时解剖取肝和脾涂片检查，吉姆萨染色后根据染色结果以及直接免疫荧光法等进行鉴定。贝纳柯克斯体 DNA 可用 PCR 或核酸探针检测。目前早期诊断多用间接免疫荧光试验和 ELISA，其敏感性和特异性较高。

四、防治原则

预防应着重防止家畜的感染，要定期检疫，隔离传染源；要严格控制鲜乳和乳制品的卫生指标。对流行区的易感人群及家畜可接种Ⅰ相菌株制成的灭活疫苗或减毒活疫苗。急性 Q 热可口服四环素或多西环素；慢性 Q 热多联合应用多西环素和利福平治疗。

第五节 巴 通 体 属

巴通体属(*Bartonella*)归属于巴通体科,其中**汉塞巴通体**(*B.henselae*)为**猫抓病**(cat scratch disease,CSD)的主要病原体;**五日热巴通体**(*B.quintana*)为五日热的主要病原体。

一、汉塞巴通体

汉塞巴通体形态多样,主要为杆状,大小为 1μm×0.5μm 左右。革兰染色阴性,Giemsa 染色呈紫蓝色,镀银染色呈棕黄色。从新鲜标本分离出来的有菌毛,经传代后可丧失。可在非细胞培养基中生长繁殖。

近年来由于饲养宠物猫、狗人群日益增多,猫抓病发病率也逐年增高。传染源主要是猫和狗,尤其是幼猫,其口腔和咽部的病原体污染自身皮毛和爪,通过咬、抓或接触传播给人。患者大多有被猫或狗咬伤、抓伤或接触史,90% 的患者是儿童或青少年。病原体从伤口进入,潜伏期 14 天左右,局部皮肤出现脓疱,淋巴结肿大,发热、厌食、肌痛和脾肿大等临床综合征,常合并结膜炎伴耳前淋巴结肿大,称为**帕里诺(Parinaud)眼淋巴结综合征**,为"猫抓病"的重要特征之一。汉赛巴通体还可引起免疫功能低下的患者患**杆菌性血管瘤 – 杆菌性紫癜**(bacillary angiomatosisbacillary peliosis,BAP),其主要表现为皮肤损害和内脏小血管壁增生。杆菌性血管瘤可发生在任何内脏组织;而杆菌性紫癜则多发生在肝和脾。

预防目前尚无疫苗。对宠物定期检疫,杀灭感染宠物。被宠物咬伤或抓伤后局部用碘酒消毒。临床治疗应用环丙沙星、红霉素和利福平等。

二、五日热巴通体

五日热巴通体原称为五日热罗卡利马体,可在细胞外生长,在体虱肠腔中繁殖,是**五日热**(又名**战壕热**)的病原体。五日热经虱传播的急性传染病,人为唯一传染源,春冬季发病较多。主要临床表现为周期性发热、严重肌肉疼痛。胫骨痛、眼球痛、复发倾向及持久的菌血症。少数病人可出现心内膜炎、BAP 等。无症状菌血症可持续数月,甚至 1~2 年或更长。

实验室确诊有赖于血清免疫学如补结试验等,也可采用人工感染虱子法,以患者血液喂虱,在虱肠道中进行病原体检查,但需与伤寒、流行性斑疹伤寒、回归热等鉴别。

治疗可用四环素或氯霉素,疗程宜较长(8~10 日),预后一般良好。

第六节 弗朗西斯菌属

弗朗西斯菌属(*Francisella*)的细菌是一类呈多形性的革兰阴性小杆菌,有蜃楼弗朗西斯菌(*Francisella philomiragia*)和**土拉弗朗西斯菌**(*F. tularesis*)2 个种,前者过去称蜃楼耶氏菌(*Y. philomiragia*),发现于水环境,仅对免疫抑制患者致病。土拉弗朗西斯菌包括 4 个亚种,其中**土拉弗朗西斯菌土拉亚种为土拉热的病原体**。本菌引起一些野生动物的感染,特别常见于野兔中,故俗称**野兔热杆菌**,人类常因接触野生动物或病畜引起土拉热。

该菌为球杆状小杆菌,大小为(0.2~0.3)μm×(0.3~0.7)μm,无芽胞、无鞭毛,在动物组织内有荚膜。专性需氧,营养要求高,普通培养基上不易生长,常用卵黄培养基或胱氨酸血琼脂培养基,孵育 24~48 小时形成灰白色细小、光滑,略带黏性的菌落。对热敏感,56℃ 5~10 分钟即死亡。但对低温有很强的耐受力,在 4℃水中或湿土中可存活 4 个月,在 0℃以下可存活 9 个月。对一般化学消毒剂敏感。

笔记

野兔、鼠类等多种野生动物和家畜都可被土拉弗朗西斯菌感染。动物之间主要通过蜱、蚊、

蚤、虱等吸血节肢动物叮咬传播，人类也易感，可通过多种途径感染，如直接接触患病的动物或被动物咬伤、节肢动物叮咬、食入污染食物，亦可经空气传播引起呼吸道感染。其致病物质主要是荚膜和内毒素。细菌侵袭力强，能穿过完整的皮肤和黏膜。另外，菌体多糖抗原可引起速发型超敏反应，蛋白质抗原可引起迟发型超敏反应等也参与致病。人感染后潜伏期一般为2~10天，发病较急，临床表现为发热、剧烈头疼、关节痛等，重者出现衰竭与休克。由于感染途径不同，临床类型可多样化，有溃疡腺型、胃肠炎型、肺炎型和伤寒样型等。病后2~3周出现IgM和IgG抗体，可持续存在多年，但无保护作用。

病原学检查采取病人血液、组织穿刺液或活检组织。标本革兰染色镜检的价值不大，血清学试验是土拉热诊断最常用的方法，在病程中血管凝集效价呈4倍或以上增长或单份血清效价达1∶160有诊断意义。

预防可用减毒活疫苗经皮上划痕接种。治疗选用链霉素或庆大霉素效果较好，也可用四环素类。

第七节　巴斯德菌属

巴斯德菌属（*Pasteurella*）的细菌为革兰阴性、球杆状的细菌，常寄生于哺乳动物和鸟类上呼吸道和肠道黏膜上。对人类致病的主要是**多杀巴氏菌**（*P. multocida*），为革兰阴性球杆菌，常呈两极浓染，无鞭毛，无芽胞、有荚膜。营养要求较高，需在含血的培养基上生长，在血平板上形成白色、不溶血的半透明小菌落。

本菌属为动物源性细菌，致病物质为荚膜与内毒素。可引起低等动物的败血症和鸡霍乱。人可通过接触染病的动物而感染，所致疾病有伤口感染、脓肿、肺部感染、脑膜炎、腹膜炎、关节炎等。

实验室检查应采取患者血、痰、脑脊液或脓等直接涂片染色镜检，并接种血平板作分离培养。根据菌落特征和形态染色的结果，再作生化反应和血清学试验进行鉴定。治疗上可选择青霉素G、四环素类或喹诺酮类等抗生素。

（黄　敏）

笔记

第十六章　其他细菌

本章描述的是一群**与医学相关的、在分类上为不同种属**的细菌，包括棒状杆菌属（如白喉棒状杆菌）、军团菌属（如嗜肺军团菌）、假单胞菌属（如铜绿假单胞菌）和一些原始发酵革兰阴性菌（如假单胞菌、不动杆菌和窄食单胞菌）、弯曲菌属和气单胞菌属等细菌。它们均各自具有**独特的生物学特性和致病性**，广泛存在于自然界的水、土壤和空气中；其中有的是人体皮肤黏膜表面的正常菌群，大多是条件致病菌。但在近年临床标本中检出率逐年增多，常引起医院内感染，且对多种抗生素耐药，治疗比较困难，因而受到临床医生高度重视。

第一节　棒状杆菌属

棒状杆菌属（*Corynebacterium*）的细菌因其菌体一端或两端膨大呈棒状而得名。革兰染色阳性，菌体着色不均匀，出现浓染颗粒或有异染颗粒。排列不规则，呈栅栏状。无荚膜、无鞭毛，不产生芽胞。本属细菌种类多，与人类有关的如**假白喉棒状杆菌**（*C. pseudodiphtheriticum*）、**结膜干燥棒状杆菌**（*C. xerosis*）、**溃疡棒状杆菌**（*C. ulcerans*）等分别寄生于人鼻腔、咽喉、眼结膜等处，大多不产生外毒素，一般无致病性，多为条件致病菌，分别可引起咽部、结膜、阴道或尿道等部位炎症，痤疮棒状杆菌可引起痤疮和粉刺。能引起人类传染性疾病的主要为**白喉棒状杆菌**（*C. diphtheriae*）。

白喉棒状杆菌

白喉棒状杆菌俗称**白喉杆菌**，是白喉的病原体。白喉是一种常见的急性呼吸道传染病，患者咽喉部出现灰白色的假膜为其病理学特征。该菌能产生强烈外毒素，进入血液可引起全身中毒症状而致病。

（一）生物学性状

1. 形态与染色　菌体为细长微弯曲的杆菌，一端或两端膨大呈棒状，故名为棒状杆菌。排列不规则，呈栅栏状、V字形或L字形。无荚膜，无鞭毛，不产生芽胞。革兰染色呈阳性，用亚甲蓝短时间染色菌体着色不均匀，出现有深染的颗粒。用Albert或Neisser等方法染色后，这些颗粒与菌体着染颜色不同，称为**异染颗粒**（metachromatic granule），对鉴定细菌有重要意义（图16-1）。颗粒的主要成分是核糖核酸和多偏磷酸盐。细菌衰老时异染颗粒可消失。

2. 培养特性　需氧或兼性厌氧。在含全血或血清培养基上，置35~37℃时细菌生长良好；在含有凝固血清的**吕氏培养基**（Loeffler medium）上生长迅速，经12~18小时培养即可形成圆形灰白色的小菌落，菌体形态典型，异染颗粒明显。在含有0.03%~0.04%亚碲酸钾（$K_2TeO_2 \cdot 3H_2O$）血琼脂平板上生长时，能使亚碲酸钾还原为黑色的金属元素碲，故菌落呈黑色或灰色，亚碲酸钾还有抑制其他杂菌生长的作用。根据该菌在亚碲酸钾血琼脂平板上形成的三种不同形态特征菌落，分别被称为重型、轻型和中间型。重型：菌落大，呈灰色，表

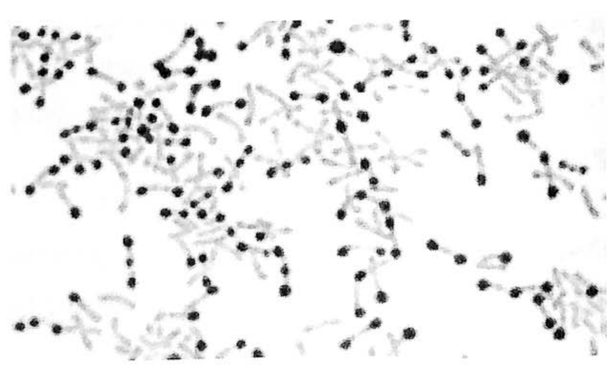


图16-1　白喉棒状杆菌异染颗粒（Albert染色）

笔记

面光滑，无光泽，边缘不规则且有条纹，不溶血；轻型：菌落小，呈黑色，表面光滑有色泽，边缘整齐，溶血；中间型：菌落小，呈灰黑色，表面较光滑，边缘较整齐，不溶血。三型的产毒株与疾病的轻重程度无明显的对应关系，但对流行病学分析有一定意义，在我国以轻型产毒株多见。

3. 变异　白喉棒状杆菌形态、菌落和毒力均可发生变异。当无毒株白喉棒状杆菌携带β **棒状杆菌噬菌体成为溶原性细菌**时，便可成为产生白喉毒素的产毒株并能随细胞分裂遗传下去。

4. 抵抗力　白喉棒状杆菌对湿热较敏感，100℃ 1分钟或58℃ 10分钟即可被杀死。对一般消毒剂敏感，如5%苯酚溶液1分钟，3%甲酚皂溶液10分钟处理可杀灭。但对日光、寒冷和干燥抵抗力较强，在衣物、儿童玩具等多种物品中可存活数日至数周。对青霉素及红霉素敏感；对磺胺类、卡那霉素和庆大霉素不敏感。

（二）致病性与免疫性

1. 致病物质　白喉棒状杆菌侵入机体，仅在鼻腔、咽喉等局部生长繁殖，产生的白喉毒素入血而引起症状，因此白喉毒素是该菌的主要致病物质。此外，还有索状因子和K抗原。

(1) **白喉毒素**(diphtherotoxin)：当β棒状杆菌噬菌体侵袭无毒白喉棒状杆菌时，其编码外毒素的 *tox* 基因与宿主菌染色体整合，无毒白喉棒状杆菌则成为产毒的白喉棒状杆菌而产生**白喉毒素**。此毒素是一种毒性强、抗原性强的蛋白质，由A、B两个肽链经二硫键连接组成。A肽链是白喉毒素的毒性功能区，抑制易感细胞蛋白质的合成。B链上有一个受体结合区和一个转位区。B链本身无毒性，但能与心肌细胞、神经细胞等表面受体结合，协助A链进入这些易感细胞内。细胞内蛋白质合成过程中，需要**延伸因子1**(elongation factor 1，EF1)**和延伸因子2**(EF2)。当白喉毒素A链进入细胞后可促使**辅酶Ⅰ**(NAD)上的**腺苷二磷酸核糖**(ADPR)与EF2结合，结果EF2失活，使蛋白质无法合成，导致细胞功能障碍。

(2) 索状因子(cord factor)：细菌表面的一种毒性糖脂，即海藻糖-6-6′础双分枝菌酸。它能破坏哺乳动物细胞中的线粒体，影响细胞呼吸与磷酸化。

(3) K抗原：细胞壁外面的一种不耐热糖蛋白，具有抗吞噬作用。白喉棒状杆菌的K抗原有利于该菌在黏膜表面的定植。

2. 所致疾病　人类是白喉棒状杆菌的唯一宿主，普遍易感，而且最易感是儿童。患者及带菌者是主要的传染源。细菌主要通过飞沫传播，最常侵犯的部位是咽、喉、气管和鼻腔黏膜。也可经污染物品直接接触传播，侵犯眼结膜、阴道等处黏膜，甚至皮肤创口，引起**白喉**(diphtheria)。白喉的典型体征是喉部有一个**假膜**(pseudomembrane)，这是细菌在局部顽强繁殖并分泌外毒素，导致炎性渗出及组织坏死，凝固而成。此假膜与黏膜下组织紧密粘连，如果局部黏膜水肿及假膜脱落，可引起呼吸道阻塞，甚至窒息死亡。外毒素进入血液(毒血症)，并与易感的心肌细胞或外周神经、肾上腺组织细胞结合，引起心肌炎、声嘶、软腭麻痹、吞咽困难、膈肌麻痹以及肾上腺功能障碍等全身中毒症状。细菌一般不入血。

3. 免疫性　**白喉的免疫主要依靠抗毒素的中和作用**。白喉病后、隐性感染及预防接种均可产生**白喉抗毒素**而使人群获得免疫力。抗毒素的作用是阻止白喉毒素B链与易感细胞结合，使A链不能进入细胞内发挥毒性作用。新生儿经胎盘自母体能获得被动免疫，出生后这种被动免疫逐渐消失。3个月时仅60%有免疫力，1岁时几乎全部易感。以往白喉患者约50%在5岁以内。近年来国家对婴幼儿及学龄前儿童普遍进行了免费预防接种，儿童及少年发病率降低，但发病年龄出现推迟现象。

（三）微生物学检查法

白喉的实验室诊断包括细菌学检查和细菌毒力测定两部分。

1. 标本采集　用无菌拭子直接从患者鼻腔、咽喉等病变部位假膜及其边缘取材。

2. 直接涂片镜检　将鼻咽拭子标本直接涂片，进行亚甲蓝、革兰或Albert染色后镜检。如

笔记

有白喉棒状杆菌的典型形态、排列和异染颗粒，结合临床症状可作初步诊断。白喉的治疗是否及时与死亡率密切相关，故早期快速诊断至关重要。

3. **分离培养** 将标本接种于吕氏血清斜面上，培养 6~12 小时后，取培养物作涂片镜检，检出率比直接涂片高，有助于快速诊断。延长培养至 18 小时即可见灰白色小菌落，可进一步作生化反应和毒力试验鉴定。

4. **毒力试验** 是鉴别产毒白喉棒状杆菌与其他棒状杆菌的重要方法。

(1) 体内法：通过豚鼠体内中和试验测定毒力。将待检菌的培养物(2ml/ 只)注射实验组豚鼠皮下；对照组豚鼠则于 12 小时前腹腔内注射白喉抗毒素 500U 后，再于皮下注射待检菌培养物(2ml/ 只)。若于 2~4 天实验组动物死亡而对照组动物存活，表明待检菌能产生白喉毒素。

(2) 体外法：常用琼脂 Elek 平板毒力试验。在蛋白胨肉汤或牛肉消化液的琼脂平板上，平行接种待检菌和阳性对照产毒菌，然后垂直铺一条浸有白喉抗毒素(1000U/ml)的滤纸片。37℃孵育 24~48 小时，若待检菌产生白喉毒素，则在纸条与菌苔交界处出现有白色沉淀线。无毒菌株则不产生沉淀线。此外，尚可用对流免疫电泳法或 SPA 协同凝集法检测待检菌培养物上清液中的毒素。

(四) 防治原则

注射**白喉类毒素**是预防白喉的重要措施。目前我国应用**白喉类毒素、百日咳菌苗、破伤风类毒素的混合制剂**(**DPT 混合疫苗**)进行人工主动免疫，效果良好，人群发病率和死亡率显著降低。对密切接触白喉患者的易感儿童需肌内注射 1000~2000U **白喉抗毒素**进行**紧急预防**，同时注射白喉类毒素以延长免疫力。对白喉患者的治疗采取早期、足量注射白喉抗毒素血清以直接中和体内的毒素，并配合选用敏感抗生素如青霉素和红霉素等进行抗菌治疗。注射抗毒素血清前需作皮肤试验。对白喉抗毒素皮肤试验阳性者可采取少量多次脱敏注射法。

第二节 鲍特菌属

鲍特菌属(*Bordetella*)的细菌是一类革兰阴性球杆菌，现有 8 个菌种。其中**百日咳鲍特菌**(*B. pertussis*)、**副百日咳鲍特菌**(*B. parapertussis*)和**支气管败血鲍特菌**(*B. bronchiseptica*)都是引起哺乳动物呼吸道感染的病原菌，但宿主范围各不相同。**百日咳鲍特菌是百日咳的病原菌**，副百日咳鲍特菌可引起人急性呼吸道感染，支气管败血鲍特菌主要感染动物，偶可感染人类。

百日咳鲍特菌

百日咳鲍特菌俗称百日咳杆菌，是人类**百日咳**的病原体。人类是百日咳鲍特菌唯一宿主。

(一) 生物学性状

1. **形态与染色** 为革兰阴性短杆状或椭圆形菌，大小为(0.2~0.5)μm × (0.5~2.0)μm，多单个分散存在。当培养条件不适宜时，可出现丝状形态。用石炭酸甲苯胺蓝染色，两端浓染。无鞭毛，不形成芽胞。有毒菌株有荚膜和菌毛。

2. **培养与生化反应** **专性需氧**，最适生长温度 35~36℃，最适 pH 6.8~7.0。生长较缓慢，倍增时间为 3.5~4 小时。营养要求高，初次分离培养用含甘油、马铃薯和血液的**鲍 – 金培养基**(Bordet–Gengou medium)。生化反应弱，不分解糖类，不产生吲哚，不生成硫化氢，不利用枸橼酸，不分解尿素等。但氧化酶阳性，触酶阳性。

3. **变异性** 百日咳鲍特菌常发生菌落变异。新分离菌株为 S 型，称为 Ⅰ 相菌，有荚膜，毒力强。人工培养后，逐渐形成 R 型菌落，为Ⅳ相菌，无荚膜，无毒力。同时其形态、溶血性、抗原构造、致病力等亦随之变异。Ⅱ、Ⅲ相为过渡相。

4. **抗原结构与抵抗力** 有菌体 O 抗原和 K 抗原。K 抗原是该菌的表面成分，又称凝集原，

包括凝集因子 1~6，它们有不同组合的血清型。凝集因子 1 为 I 相菌共同抗原，是种的特异性抗原。鉴于百日咳鲍特菌血清型的特异性，世界卫生组织（WHO）推荐在菌苗中应含有 1、2、3 因子血清型的菌株。抵抗力较弱，日光直射 1 小时，56℃加热 30 分钟均可被杀死。干燥尘埃中能存活 3 天。

（二）致病性与免疫性

1. 致病性 百日咳鲍特菌**主要侵犯婴幼儿呼吸道**。感染早期有轻度咳嗽，1~2 周后出现阵发性痉挛性咳嗽，可持续数周，随后进入恢复期，全病程可达几个月。该病的主要威胁是肺部继发感染、癫痫发作、脑病和死亡。

致病物质有荚膜、菌毛及产生的多种毒素等。**传染源为早期患者和带菌者**。儿童易感。通过**飞沫传播**。潜伏期为 7~14 天。百日咳鲍特菌不进入血流，主要造成局部组织损伤。细菌首先附着于纤毛上皮细胞，在局部繁殖，并产生毒素，引起局部炎症、坏死，上皮细胞纤毛运动受抑制或破坏，黏稠分泌物增多而不能及时排出，导致剧烈咳嗽。临床病程可分三期：①**卡他期**：类似普通感冒，有低热、打喷嚏、轻度咳嗽，可持续 1~2 周，此期传染性很强。②**痉咳期**：出现**阵发性痉挛性咳嗽，常伴吸气吼声（鸡鸣样吼声）**，同时常有呕吐、呼吸困难、发绀等症状。每日激烈阵咳可达 10~20 次，一般持续 1~6 周。③**恢复期**：阵咳逐渐减轻，完全恢复需数周至数月不等。因病程较长，故称百日咳。若治疗不及时，少数患者可发生肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌和溶血性链球菌等继发感染，出现肺炎、中耳炎等。

2. 免疫性 机体感染百日咳鲍特菌后能出现多种特异性抗体，如抗 PT（pertussis toxin，百日咳毒素）或抗 FHA（Filamentous hemagglutinin，丝状血凝素）IgM、IgG、IgA 等，有一定保护作用。但目前认为**局部黏膜免疫起主要作用**，局部 sIgA 具有抑制病菌黏附气管上皮细胞的作用。**病后可获得持久免疫力**，很少再次感染。

（三）微生物学检查法

取鼻咽拭子或鼻腔洗液直接接种于鲍金培养基进行分离培养，观察菌落并进行染色镜检和生化反应鉴定，进而用百日咳鲍特菌 I 相免疫血清作凝集试验进行血清型鉴定。**荧光抗体法**检查标本中抗原，可用于早期快速诊断。也可用 ELISA 法检测患者血清中抗 PT、抗 FHA、IgM 及 IgA 抗体进行血清学早期诊断。

（四）防治原则

预防百日咳主要依靠疫苗接种。WHO 规定制备疫苗菌株必须用含有 1、2、3 型凝集因子的 I 相菌株。目前应用的百日咳（死）菌苗有**全菌体百日咳菌苗**和仅含抗原的**无菌体菌苗**两种。我国采用 **I 相百日咳死菌苗与白喉、破伤风类毒素制成三联疫苗**（DPT）进行预防，取得了良好的预防效果。治疗首选红霉素、氨苄西林等。

第三节 军团菌属

军团菌属（*Legionella*）的细菌是一类革兰阴性杆菌，广泛分布于自然界，尤其适宜温暖潮湿地带的天然水源及人工冷、热水管道系统中。本属细菌现已有 39 个种、3 个亚种和 61 个血清型，已从人体分离出 19 个菌种。对人主要致病菌为**嗜肺军团菌**（*L. pneumophila*），**引起人类军团病**。军团病的名称来源于 1976 年 7 月在美国费城召开的一次退伍军人大会期间，突然暴发流行一种原因不明的肺炎，当时称为**军团病**（Legionnaires disease）。后从死亡者肺组织中分离出一种新的革兰阴性杆菌，命名为军团菌。1984 年，该菌被正式命名为**军团菌属**。此后在全球许多国家均有军团病的发生。我国 1982 年首次报道该菌的感染，至今已有十余起暴发流行发生。该菌还能引起一种叫做庞蒂亚克热（Pontiac fever）的疾病，即临床表现为轻型的军团病。

笔记

嗜肺军团菌

嗜肺军团菌生活在水中，通过微风和阵风传播，然后被吸入呼吸道，主要引起**军团病**，也可引起**医院感染**。

（一）生物学性状

1. 形态与染色 革兰阴性杆菌，不易着色。菌体形态易变，在组织中呈短杆状，在人工培养基上成长丝状或多形性。常用 Giemsa **染色**（**呈红色**）**或** Dieterle **镀银染色**（**呈黑褐色**）。有 1 至数根端鞭毛或侧鞭毛和菌毛及微荚膜，但不形成芽胞。

2. 培养及生化反应 为**专性需氧菌**，2.5%~5% CO_2 可促进生长。最适温度为 35℃，最适 pH 6.4~7.2。**兼性胞内寄生**，生长需要多种元素，如钙、镁、铁、锰、锌和钼。营养要求较高，生长时需要 L- 半胱氨酸、甲硫氨酸等。在**活性炭 - 酵母浸出液琼脂**（buffered charcoal yeast extract agar，BCYE）培养基上，3~5 天可形成 1~2mm、灰白色有光泽的 S 型菌落。若在 BCYE 培养基中加入 0.1g/L 溴甲酚紫，菌落呈浅绿色。该菌不发酵糖类，可液化明胶，触酶阳性，氧化酶阳性或弱阳性，不分解尿素，硝酸盐还原试验阴性。

3. 抗原组成 主要有菌体(O)抗原和鞭毛(H)抗原。根据 O 抗原将本菌分为 1~15 个血清型。其中 1 型是从人群分离到的最常见血清型，也是 1976 年军团病的病原菌。我国主要流行的是 1 型和 6 型。该菌的外膜蛋白具有良好的免疫原性，能刺激机体产生免疫应答。

4. 抵抗力较强 该菌在适宜的环境中可较长期存活。如在 36~70℃热水中能够存活，而在蒸馏水中可存活 100 天以上，原因是该菌能与一些常见原虫、微生物形成共生关系，可寄生于**阿米巴变形虫**内而保持致病活力。对常用化学消毒剂、干燥、紫外线较敏感。但对氯或酸有一定抵抗，如在 pH 2 盐酸中可存活 30 分钟，利用这一特点处理标本可去除杂菌。

（二）致病性与免疫性

关于嗜肺军团菌感染的致病机制目前尚不十分清楚。近年来研究发现，军团菌的致病性与其毒力因子和铁代谢等相关。

1. 致病物质 主要是产生的多种酶类、毒素和溶血素，直接损伤宿主。细胞毒素阻碍中性粒细胞氧化代谢；菌细胞中所含的磷酸酯酶阻碍刺激中性粒细胞超氧化物阴离子产物，使中性粒细胞内第二信使编排陷于混乱。这些物质可抑制吞噬体与溶酶体的融合，使吞噬体内的细菌在吞噬细胞内生长繁殖而间接导致宿主细胞死亡。此外，菌毛的黏附作用、微荚膜的抗吞噬作用及内毒素毒性作用也参与发病过程。

2. 所致疾病 嗜肺军团菌主要引起**军团病**，也可引起**医院感染**。多流行于夏秋季节。主要经**飞沫传播**。**带菌飞沫、气溶胶被直接吸入下呼吸道，引起以肺为主的全身性感染**。军团病临床上有三种感染类型，即**流感样型**、**肺炎型和肺外感染型**。流感样型亦称**庞蒂亚克热**，为轻症感染，表现为发热、寒战、肌肉酸痛等症状，持续 3~5 天症状缓解，预后良好，X 线无肺炎征象。肺炎型亦称**军团病**，起病急骤，以肺炎症状为主，伴有多器官损害。患者出现高热寒战、头痛、肌痛剧烈，开始干咳，后出现脓痰或咯血，常伴有中枢神经系统和消化道症状，不及时治疗可导致死亡，死亡率可达 15%~20%。肺外感染型，为继发性感染，出现脑、肾、肝等多脏器感染症状。

3. 免疫性 嗜肺军团菌是**胞内寄生菌**。细胞免疫在机体抗菌感染过程中起重要作用。由细胞因子活化的单核细胞，可抑制胞内细菌的生长繁殖。抗体及补体则能促进中性粒细胞对胞外细菌的吞噬和杀菌作用。

（三）微生物学检查法

采集下呼吸道分泌物、肺活检组织或胸腔积液等标本进行细菌学检查。用 BCYE 培养基分离细菌，再根据培养特性、菌落特征、生化反应作出鉴定，并对细菌进行血清及分型。但往往结果出现较晚。故可将标本用已知荧光标记抗体进行**直接荧光试验**，既特异又可作快速诊断。也

笔记

可用 ELISA、RIA 及乳胶凝集等试验检测标本中该菌特异性抗原或用 PCR 技术检查该菌核酸进行快速诊断。取患者双份血清，采用间接荧光抗体法检测特异性 IgG，抗体效价 4 倍或 4 倍以上升高有诊断意义。

（四）防治原则

目前尚无嗜肺军团菌特异性疫苗。医院空调冷却水、辅助呼吸机等所产生的气溶胶颗粒中能检出此菌。因此，应加强水源管理及人工输水管道和设施的消毒处理，防止军团菌造成空气和水源的污染，是预防军团病扩散的重要措施。治疗军团病可首选红霉素。

第四节　假单胞菌属

假单胞菌属（*Pseudomonas*）包括一群革兰阴性小杆菌，广泛分布于土壤、水和空气中。有荚膜、鞭毛和菌毛，无芽胞、需氧。在所有的培养基上均生长良好。其种类繁多，目前发现的菌种已超过 150 个，与人类关系密切的主要有**铜绿假单胞菌**（*P. aeruginosa*）、**荧光假单胞菌**（*P. fluorescens*）和**类鼻疽假单胞菌**（*P. pseudomallei*）等。主要引起机会性感染，如患者输入了被荧光假单胞菌污染的血液或血制品后，可出现**败血症**或不可逆的**休克**。类鼻疽假单胞菌在东南亚地区可引起地方性人和动物的**类鼻疽病**。

铜绿假单胞菌

铜绿假单胞菌俗称**绿脓杆菌**，广泛分布于自然界及人和动物体表及肠道中，是一种常见的机会致病菌。由于在生长过程中产生绿色水溶性色素，感染后的脓汁或敷料上出现绿色，故得名。

（一）生物学性状

1. 形态染色　为革兰染色阴性的杆菌，一般约为(0.5~1.0)μm×(1.5~3.0)μm 大小的直或微弯小杆菌。无芽胞，有荚膜，单端有 1~3 根鞭毛，运动活泼。临床分离的菌株常有菌毛。

2. 培养及生化反应　专性需氧。在普通培养基上生长良好，最适生长温度为 35℃，在 4℃不生长而在 42℃可生长是铜绿假单胞菌的一个特点。最适产毒温度为 26℃。pH 5~7 范围内生长较好，**产生带荧光素**（fluorescein）**的水溶性色素青脓素**（pyoverdin）**与绿脓素**（pyocyanin），故使培养基变为亮绿色。在液体培养基中呈混浊生长，常在其表面形成菌膜。铜绿假单胞菌能够分解葡萄糖，产酸不产气，但不分解甘露醇、麦芽糖、蔗糖和乳糖。分解尿素，氧化酶阳性，不形成吲哚。

3. 抵抗力　抵抗力较其他革兰阴性菌强，对多种化学消毒剂与抗生素有抗性或耐药性；56℃需 1 小时才可杀死细菌。

4. 抗原结构　铜绿假单胞菌有 O 和 H 抗原。O 抗原包括两种成分，一种是**内毒素脂多糖**，另一成分是**原内毒素蛋白**（original endotoxin protein，OEP）。OEP 是一种免疫原性的高分子抗原，较强，其抗体不仅对同一血清型细菌有特异性保护作用，且对不同血清型的细菌也有共同保护作用。OEP 广泛存在于一些革兰阴性细菌中，包括其他种类的假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和霍乱弧菌等，是一种具有重要生物学活性的类属抗原。

（二）致病性与免疫性

铜绿假单胞菌是人体正常菌群之一，在肠道中繁殖，为环境中主要污染源之一。该菌能根据特定信号分子的浓度来监测周围环境中自身或其他细菌的数量变化，当信号达到一定的浓度阈值时，即启动菌体中相关基因的表达来适应环境中的变化，这一调控系统被称为细菌的**密度感知信号系统**（Quorum-sensing system，QS）。QS 系统在调控铜绿假单胞菌各种毒力因子表达中起重要作用，同时影响宿主免疫功能。

主要致病物质是内毒素，此外尚有菌毛、荚膜、胞外酶和外毒素等多种致病因子（表 16-1）。

笔记

表 16-1 铜绿假单胞菌的致病物质

致病物质	生物学活性
菌毛	对宿主细胞具有黏附作用
荚膜多糖	抗吞噬作用
毒素	
内毒素	致发热、休克、DIC 等
外毒素 A	抑制蛋白质合成，引起组织坏死
细胞溶解毒素	杀白细胞素、溶素等，能损伤细胞、组织
蛋白分解酶	分解蛋白质，损伤多种细胞和组织
胞外酶 S	抑制蛋白质合成
弹性蛋白酶	降解弹性蛋白，引起肺实质损伤和出血
碱性蛋白酶	损伤组织、抗补体、灭活 IgG、抑制中性粒细胞功能
磷酸酯酶 C	组织损伤

铜绿假单胞菌也广泛分布在医院环境中，其感染多见于皮肤黏膜受损部位，如烧伤、创伤或手术切口等，也见于因长期化疗或使用免疫抑制剂的患者，表现为**局部化脓性炎症**。也可引起**中耳炎**、**角膜炎**、**尿道炎**、**胃肠炎**、**心内膜炎**和**脓胸等**，此外，该菌引起的**菌血症**、**败血症**及婴儿严重的流行性**腹泻**也有报道。

在医院感染中由该菌引起者占 10% 左右。在某些特殊病房中，如烧伤和肿瘤病房、各种导管和内镜的治疗与检查室内，铜绿假单胞菌的感染率可高达 30%。中性粒细胞的吞噬作用在抗铜绿假单胞菌感染中起着重要的作用。感染后产生的特异性抗体，尤其是分泌型 IgA 的黏膜表面免疫作用，也有一定的抗感染作用。

(三) 微生物学检查法与防治

按疾病和检查目的不同分别采取标本：炎症分泌物、脓液、血液、脑脊液等；以及医院病区或手术室的物品、医疗器材等。

将标本接种于**血琼脂平板**，培养后根据菌落特征、色素及生化反应等鉴定。血清学、绿脓菌素及噬菌体分型可供流行病学、医院内感染追踪调查等使用。

已研制出多种铜绿假单胞菌疫苗，其中以 **OEP 疫苗**具有不受菌型限制，保护范围广，毒性低等优点。铜绿假单胞菌可由各种途径传播，主要是通过污染医疗器具及带菌医护人员引起的医源性感染，应对医院感染予以重视。治疗可选用庆大霉素、多粘菌素等。

第五节 弯 曲 菌 属

弯曲菌属（*Campylobacter*）的细菌是一类呈逗点状或 S 形的革兰阴性杆菌，现有 21 个菌种。广泛分布于动物界，常定居于家禽和野鸟的肠道内。主要引起人类的胃肠炎和败血症，也可引起肠道外感染，为动物源性疾病。对人致病的有**空肠弯曲菌空肠亚种**（*C. jejuni subsp. jejuni*）、**大肠弯曲菌**（*C. coli*）和**唾液弯曲菌**（*C. sputorum*）等 13 个种，其中以空肠弯曲菌空肠亚种最为常见。

空肠弯曲菌空肠亚种

(一) 生物学性状

形态细长，呈弧形、螺旋形、S 形或海鸥状，革兰染色阴性（图 16-2）。运动活泼，一端或两端有单鞭毛。无芽胞，无荚膜。**微需氧**，需在 5% O_2 或 10% CO_2 和 85% N_2 的环境中生长。最适

笔记

生长温度为 42℃，因在此温度培养时，粪便中其他细菌的生长会受到抑制而起到选择作用。营养要求高。生化反应不活泼，不发酵糖类，氧化酶阳性。

根据 O 抗原，空肠弯曲菌可分为 42 个血清型。

抵抗力较弱。培养物放置 4℃冰箱中很快死亡，56℃ 5 分钟即被杀死。干燥环境中仅存活 3 小时，培养物放室温可存活 2~24 周。

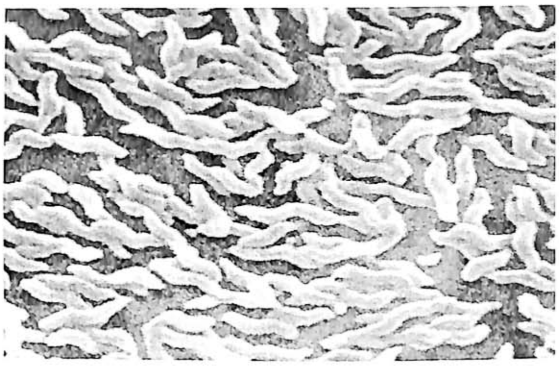


图 16-2 空肠弯曲菌电镜图

（二）致病性与免疫性

空肠弯曲菌是**散发性细菌性胃肠炎**最常见的菌种之一。该菌常通过污染饮食、牛奶、水源等被食入。在发展中国家，50% 以上感染由污染的鸡肉而引起。由于空肠弯曲菌对胃酸敏感，经口食入至少 10^4 个细菌才有可能致病。空肠弯曲菌的致病作用与其侵袭力和毒素有关。进入小肠的细菌在小肠上部借鞭毛侵袭运动到达肠黏膜上皮细胞表面，经菌毛定植于细胞。细菌生长繁殖释放外毒素，细菌裂解释出内毒素，引起炎症反应。临床表现为**痉挛性腹痛**、**腹泻**、**血便**或**果酱样便**，量多；头痛、不适、发热。通常该病自限，病程 5~8 天。此外，人类感染与感染剂量和宿主免疫状态亦有关。

机体感染空肠弯曲菌后可产生特异性抗体，能通过调理作用和活化补体等作用增强吞噬细胞的吞噬、杀灭细菌及补体的溶菌作用。

（三）微生物学检查法与防治

可用粪便标本涂片、镜检，查找革兰阴性弧形或海鸥状弯曲菌，或用**悬滴法**观察鱼群样运动或螺旋式运动。分离培养可直接选用含多粘菌素 B 和万古霉素的选择性培养基，于 42℃和 37℃微需氧环境下培养 48~72 小时。**PCR 法**可直接检出粪便中的弯曲菌特异性 DNA。目前尚无特异性疫苗。预防主要是注意饮水和食品卫生，加强人、畜、禽类的粪便管理。治疗可用红霉素、氨基糖苷类抗生素、氯霉素等。

第六节 窄食单胞菌属

窄食单胞菌属（*Stenotrophomonas*）有 5 个种，而嗜麦芽窄食单胞菌是最先发现的一个菌种，也是该属中唯一致人类疾病的细菌。

嗜麦芽窄食单胞菌

嗜麦芽窄食单胞菌（*S. maltophilia*）是一种专性需氧的非发酵型革兰阴性杆菌，有丛鞭毛，无芽胞，无荚膜，菌落呈针尖状，直径 0.5~1mm，中央突起。在血平板上有刺鼻的氨味，呈 β 溶血；在营养琼脂培养基上显示灰黄色素或无色素，该菌生化反应不活跃，营养谱有限，对葡萄糖只能缓慢利用，但能快速分解麦芽糖而迅速产酸，故得名。还原硝酸盐为亚硝酸盐，氧化酶阴性，DNA 酶阳性，水解明胶和七叶苷，赖氨酸脱羧酶阳性。

嗜麦芽窄食单胞菌广泛分布于各种水源、牛奶、冰冻食品、植物根系、人和动物的体表及消化道中，而在医院环境和医务人员皮肤上的该菌分离率更高。其临床分离率仅次于铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌，居非发酵菌第3位，是人类重要的机会致病菌和医院感染菌。该菌还对山羊、鳄鱼、鲶鱼、猪等动物，以及水稻等植物致病，因此，该菌是人、畜、水产动物和水稻等植物共同的病原菌。

嗜麦芽窄食单胞菌致病可能与其产生的弹性蛋白酶、脂酶、黏多糖酶、透明质酸酶、DNA 酶

笔记

和溶血素等有关。感染后可引起肺炎、菌血症、败血症、心内膜炎、脑膜炎、腹膜炎、伤口感染、眼部感染、纵隔炎、牙周炎和骨骼、关节、泌尿道、消化道及软组织等感染，其死亡率高达 43% 以上。引起如此高的死亡率的主要原因首先是由于该菌具有多重耐药性，导致其对目前大多数的抗菌药物不敏感；其次是该菌对一些最初敏感的抗菌药物在治疗过程中很快产生耐药，从而导致治疗失败，引起死亡。该菌感染的大部分患者有发热、寒战、腹胀、乏力和淡漠等临床表现，同时伴有中性粒细胞数量的减少，病情危重并发症可出现休克、弥散性血管内凝血、多器官衰竭综合征等。

人类嗜麦芽窄食单胞菌感染的易感因素有机体自身和医源性两类，机体自身因素包括年龄，老年人是高危易感者；基础性疾病，如肿瘤、慢性呼吸道疾病、糖尿病、尿毒症和艾滋病等；医源性因素包括抗菌药物用药史、介入性医疗操作（如各种插管、人工瓣膜和引流管等）、化疗、放射治疗和未严格执行消毒措施等。临床治疗首选磺胺类药物。

第七节　不动杆菌属

不动杆菌属（*Acinetobacter*）有 16 个菌种，是专性需氧的革兰阴性菌，呈球形或球杆状，有荚膜无芽胞，无鞭毛。广泛分布于土壤和水中，易在潮湿环境中生存，也存在于健康人的皮肤、咽、结膜、唾液、胃肠道及阴道分泌物中，是机会致病菌。其中鲍曼不动杆菌（*A. baumanii*）较多见，也是导致医院感染的常见菌之一。鲁菲不动杆菌（*A. lwoffii*）、溶血不动杆菌（*A. haemolytius*）、琼氏不动杆菌（*A. junii*）和约翰逊不动杆菌（*A. johnsonii*）及其他不动杆菌也偶尔可分离出。来自于患者标本的细菌在各种培养基上都生长良好。该类细菌黏附力极强，易黏附在各类医用材料上，成为贮菌源。感染源可以是患者自身（内源性感染），亦可以是不动杆菌感染者或带菌者，尤其是双手带菌的医务人员。传播途径有接触传播和空气传播。在医院里，污染的医疗器械及医护人员的手是重要的传播媒介。易感者为老年患者、早产儿和新生儿，手术创伤、严重烧伤、气管切开或插管、使用人工呼吸机、行静脉导管和腹膜透析者及广谱抗菌药物或免疫抑制剂应用者也易感染。该菌带多种耐药基因，可将其耐药性传递给其他细菌，而且还能接受其他细菌的耐药基因，故可对多种抗生素耐药。治疗可用庆大霉素、卡那霉素或妥布霉素。

第八节　莫 拉 菌 属

莫拉菌属（*Moraxella*）与不动杆菌属同属莫拉菌科，共有 15 个种。该属细菌是上呼吸道正常菌群中成员，为革兰染色阴性的小杆菌、球杆菌或球菌，无鞭毛，不发酵，吲哚试验阴性。氧化酶阳性，触酶阳性。属机会致病菌。感染多发生于肿瘤及化、放疗等免疫功能低下的患者。莫拉菌属中的大多数细菌对抗微生物药物敏感。

卡他莫拉菌（*M. catarrhalis*）在痰液中常呈肾形双球菌状，存在于吞噬细胞内或外，一般不致病。当机体免疫力低下时，可单独或与其他细菌共同引起黏膜卡他性炎症、急性咽喉炎、支气管炎、肺炎、急性中耳炎或脑膜炎等，是引起医院内患者上呼吸道感染的常见病原菌。其致病物质主要是内毒素。该菌的 β－内酰胺酶产生率高达 90% 以上，故临床治疗这类感染时，应根据药物敏感试验结果选用抗生素。

第九节　气单胞菌属

气单胞菌属（*Aeromonas*）有 28 个菌种，是一类具有单端鞭毛、有荚膜的革兰阴性杆菌。能利用 D－葡萄糖作为唯一或主要碳源和能量来源。有 14 个基因种。其中嗜水气单胞菌嗜水亚

笔记

种(*A. hydrophila subsp. hydrophila*)和豚鼠气单胞菌(*A. caviac*)为主要致病的菌种。可引起人类胃肠炎、食物中毒、败血症及创伤感染等。

嗜水气单胞菌为水中常居菌,进食细菌污染的水和食物等而发生肠内感染,也可引起肠外感染。能致肠内感染导致腹泻的气单胞菌可产生肠毒素。肠毒素分为细胞溶解性、细胞毒性和细胞兴奋性三种。前两种能溶解兔红细胞,后者可用中国地鼠卵巢(CHO)细胞毒性试验检出。受毒素作用的 CHO 细胞由圆变长。用霍乱毒素(CT)的基因探针验证,细胞溶解性和细胞兴奋性肠毒素的基因都与 CT 有同源性。

根据不同疾病分别采取粪便或肛拭、血液、脓汁、脑脊液和尿液等标本进行微生物学检查。用血平板和选择性培养基同时进行分离培养,对分离菌落作氧化酶、吲哚试验等进行鉴定,并注意与弧菌属和邻单胞菌的鉴别,必要时用分子生物学技术对气单胞菌的基因进行鉴定。治疗可用氨基糖苷类抗生素、氯霉素和喹喏酮类抗菌药物。

第十节 李斯特菌属

李斯特菌属(*Listeria*)有 8 个菌种,其中仅产单核细胞李斯特菌(*L. monocytogenes*)对人类致病,引起李斯特菌病,主要表现为脑膜炎和败血症等。曾有食用李斯特菌污染的熟肉制品等食物而致肠道感染的报告。

产单核细胞李斯特菌的形态为球杆状,常成双排列。革兰阳性。有鞭毛,无芽胞,可产生荚膜。营养要求不高,在室温中动力活泼,但在 37℃时动力缓慢,此特征可作为初步判定。能发酵多种糖类,与多种革兰阳性菌有共同抗原,故血清学诊断无意义。

产单核细胞李斯特菌广泛分布于自然界,在健康人群中的携带率为 1%~5%。在人群中致病多见于新生儿、高龄孕妇和免疫功能低下者。其致病物质为李斯特菌溶素 O(listeriolysin O),与链球菌溶素 O 和肺炎链球菌溶素(pneumolysin)的基因具有同源性。此溶素需细菌被吞噬后在细胞内生长时释放,这与细菌能在巨噬细胞和上皮细胞内生长以及在细胞间的传播有关。

本菌所致新生儿疾患有早发和晚发两型。早发型为宫内感染,常致胎儿败血症,病死率极高。晚发型在出生后 2~3 天引起脑膜炎、脑膜脑炎和败血症等。本菌致成人感染主要是引起脑膜炎和败血症等。

微生物学检查可取血液、脑脊液进行检查,也可采集宫颈、阴道、鼻咽部分泌物,新生儿脐带残端、羊水等,引起肠道感染者可取可疑食物、粪便和血液等。根据细菌形态学、培养特性及生化反应作出诊断。治疗可用青霉素、氨苄西林、庆大霉素和红霉素等。

(王明丽)

笔记

第十七章 放线菌属与诺卡菌属

放线菌(Actinomycetes)是一类**丝状或链状、呈分枝生长的原核细胞型微生物**。1877年,由Harz在牛颚肿病病灶中分离得到该病原菌,因其菌丝呈放射状排列,故名。放线菌具有菌丝和孢子,在固体培养基上生长状态与真菌相似,19世纪以前把放线菌归为真菌。随着科学的发展和新技术的应用,近代生物学的研究结果表明,放线菌的结构和化学组成与细菌相同,属于一类具有分枝状菌丝体的细菌。迄今,系统学家们综合各种放线菌的研究证据,在《伯杰系统细菌学手册》(2004年)中将放线菌提升为放线菌门,属于原核生物界细菌域第14门。

放线菌广泛分布于自然界,种类繁多,致病性放线菌主要为放线菌属和诺卡菌属中的菌群。放线菌属为人体的正常菌群,可引起**内源性感染**,诺卡菌属为腐物寄生菌,广泛存在于土壤中,引起**外源性感染**。放线菌属与诺卡菌属主要特征的比较见表17-1。此外,**放线菌属的细菌是抗生素的主要产生菌**。目前广泛使用的抗生素约70%由各种放线菌产生,如链霉素、卡那霉素、红霉素、利福霉素等。某些放线菌还能产生酶制剂、维生素和氨基酸等药物。

表17-1 放线菌属与诺卡菌属的比较

特征	放线菌属	诺卡菌属
分布	寄生在人和动物口腔、上呼吸道、胃肠道、泌尿生殖道	存在于土壤等自然环境中,多为腐生菌
培养特性	厌氧或微需氧 35~37℃生长,20~25℃不生长	专性需氧 37℃或20~25℃均生长
抗酸性	无抗酸性	弱抗酸性
感染性	内源性感染	外源性感染
代表菌种	衣氏放线菌、牛型放线菌	星形诺卡菌、巴西诺卡菌

第一节 放线菌属

放线菌属(*Actinomyces*)有35个种,在自然界广泛分布,正常寄居在人和动物口腔、上呼吸道、胃肠道和泌尿生殖道,常见的有**衣氏放线菌**(*A. israelii*)、**牛型放线菌**(*A. bovis*)、**内氏放线菌**(*A. naeslundii*)、**黏液放线菌**(*A. uiscous*)和龋齿放线菌(*A. odontolyticus*)等。其中对人致病性较强的为衣氏放线菌。

(一)生物学性状

本属放线菌为**革兰阳性**、无芽胞、无荚膜、无鞭毛的**非抗酸性丝状菌**,菌丝直径0.5~0.8μm。**以裂殖方式繁殖**,常形成分枝状无隔菌丝,有时菌丝能断裂成链球或链杆状,形态与类白喉杆菌相似。

放线菌属**培养比较困难**,生长缓慢,**厌氧或微需氧**,初次分离加5% CO_2 可促进其生长。在葡萄糖肉汤培养基中培养3~6天,可见培养基底部形成灰白色球形小颗粒沉淀物。在血琼脂平板上培养4~6天可长出灰白色或淡黄色、粗糙、微小圆形菌落,不溶血,显微镜下观察可见菌落由长度不等的蛛网状菌丝构成。在脑心浸液琼脂培养基上培养4~6天可形成白色、表面粗糙的大菌落,称为"白齿状"菌落。

在患者病灶组织和瘘管流出的脓汁中,可找到肉眼可见的黄色小颗粒,称**硫磺样颗粒**(sulfur granule),这种颗粒是放线菌在组织中形成的**菌落**。将硫磺样颗粒制成压片或组织切片,在显微

笔记

镜下可见放射状排列的菌丝，菌丝末端膨大呈棒状，形似**菊花状**（图 17-1）。

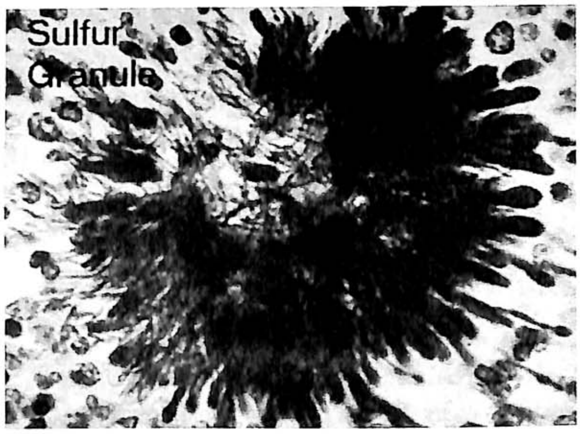


图 17-1　硫磺样颗粒压片镜检形态

放线菌属能发酵葡萄糖，产酸不产气，过氧化氢酶试验阴性。衣氏放线菌能还原硝酸盐、分解木糖，不水解淀粉，而牛型放线菌则不能还原硝酸盐，不分解木糖，但能水解淀粉。

（二）致病性与免疫性

放线菌属多存在于口腔等与外界相通的体腔中，为人体的正常菌群。当机体抵抗力下降，口腔卫生不良、拔牙或口腔黏膜受损时，可致内源性感染，引起**放线菌病**。放线菌病是一**种软组织的化脓性炎症**，若无继发感染则多呈**慢性肉芽肿**，常伴有**多发性瘘管形成**，脓汁中可找到**特征性的硫磺样颗粒**。根据感染途径和涉及的器官不同，临床分为面颈部、胸部、腹部、盆腔和中枢神经系统放线菌病，其中以面颈部最为常见，约占患者的 60%。面颈部放线菌病患者大多近期有口腔炎、拔牙史或下颌骨骨折史，临床表现为后颈面部肿胀，不断产生新结节、多发性脓肿和瘘管形成。病原体可沿导管进入唾液腺和泪腺，或直接蔓延至眼眶和其他部位，若累及颅骨**可引起脑膜炎和脑脓肿**，也可累及胸部或引起吸入性**肺部感染**，在肺部形成病灶，症状和体征酷似肺结核。损害也可扩展到心包和心肌，并能穿破胸膜和胸壁，在体表形成多发性瘘管，排出脓液。**腹部感染**常能触及腹部包块与腹壁粘连，出现便血和排便困难，常疑为结肠癌。**盆腔感染**多继发于腹部感染，也可由于子宫内放置不合适或不洁避孕用具所致。原发性皮肤放线菌病常由外伤或昆虫叮咬引起，先出现皮下结节，然后结节软化、破溃形成窦道或瘘管。放线菌属还与**龋齿和牙周炎**有关，内氏和黏液放线菌能产生一种多糖物质 6- 去氧太洛糖（6-deoxytalose），可将口腔中的放线菌和其他细菌黏附在牙釉质上形成菌斑。由于细菌分解食物中的糖类产酸，酸化和腐蚀釉质形成龋齿，其他细菌可进一步引起牙龈炎和牙周炎。

放线菌病患者血清中可检测到多种特异性抗体，但这些抗体无免疫保护作用，诊断意义不大。**机体对放线菌的免疫主要靠细胞免疫**。

（三）微生物学检查

主要的微生物学检查是在脓汁、痰液和组织切片中**寻找硫磺样颗粒**。将可疑颗粒制成压片，革兰染色，在显微镜下观察特征性的放射状排列的**菊花状菌丝**，即可确定诊断。也可取组织切片经苏木精伊红染色镜检。必要时可作放线菌的分离培养，将标本接种于沙保（Sabouraud）培养基及血平板上，在 37℃、5% CO_2 孵箱中培养 1~2 周后可形成白色、干燥、边缘不规则的粗糙型菌落。可用涂片、革兰染色和镜检对菌落进行鉴定，也可通过抗酸染色进一步区分放线菌属和诺卡菌属。

（四）防治原则

注意口腔卫生，及时治疗口腔疾病是预防放线菌病的主要方法。对患者的脓肿及瘘管应及时进行外科清创处理，同时应大量、长期使用抗生素治疗（6~12 个月），首选青霉素，亦可用克林达霉素、红霉素和林可霉素等治疗。

第二节　诺 卡 菌 属

诺卡菌属（*Nocardia*）有 51 个菌种，广泛分布于土壤，**不属于人体正常菌群**。对人致病的主要有**星形诺卡菌**（*N. asteroides*）、**巴西诺卡菌**（*N. brasiliensis*）和**鼻疽诺卡菌**（*N. farcinica*），其中星

笔记

形诺卡菌致病力最强，在我国最常见。

（一）生物学性状

诺卡菌属为革兰阳性杆菌，形态与放线菌属相似，但菌丝末端不膨大，有时见杆状与球状同时存在。部分诺卡菌属具有弱抗酸性，仅用1%盐酸乙醇延长脱色时间即可变为抗酸阴性，据此可与结核分枝杆菌鉴别。诺卡菌属为专性需氧菌，营养要求不高，在普通培养基或沙保培养基上，在22℃或37℃条件下生长良好。诺卡菌属生长缓慢，一般1周左右长出菌落，菌落表面干燥、有皱褶或呈蜡样，不同菌株可产生不同的色素。在液体培养基中表面形成菌膜，液体澄清。

（二）致病性与免疫性

诺卡菌属感染为**外源性感染**。星形诺卡菌主要**由呼吸道或创口侵入机体**，引起**化脓性感染**，特别是免疫力低下的感染者，如AIDS患者、肿瘤患者和长期使用免疫抑制剂的病人，感染后可引起肺炎、肺脓肿，慢性者类似肺真菌病。星形诺卡菌可通过血行播散，引起脑膜炎与脑脓肿。若该菌经皮肤创伤感染，可侵入皮下组织引起慢性化脓性肉芽肿和形成瘘管。在病变组织或脓汁中可见黄、红、黑等色素颗粒，为诺卡菌属的菌落。**巴西诺卡菌**可侵入皮下组织引起**慢性化脓性肉芽肿**，表现为肿胀、脓肿及多发性瘘管。感染好发于腿部和足，称**足分枝菌病**（mycetoma）。

（三）微生物学检查

诺卡菌属的微生物学检查法主要是在脓液、痰等标本中**查找黄色或黑色颗粒状的诺卡菌属菌落**。将标本制成涂片或压片，染色镜检，可见革兰阳性和部分抗酸性分枝菌丝，其抗酸性弱，据此可与结核分枝杆菌区别。诺卡菌属的分离培养可用沙保培养基和血平板，培养1周左右可见细小菌落，涂片染色镜检，可见革兰阳性纤细分枝菌丝，陈旧培养物中的菌丝可部分断裂成链杆状或球杆状。诺卡菌属侵入肺组织，可出现L型变异，故常需反复检查才能证实。

（四）防治原则

诺卡菌属的感染无特异预防方法。对脓肿和瘘管等可**手术清创**，切除坏死组织。各种感染可用**抗生素或磺胺类药物治疗**，一般治疗时间不少于6周。

（杨 春）

笔记

第十八章 支 原 体

支原体(*Mycoplasma*)是一类**缺乏细胞壁**、呈高度多形性、能通过滤菌器、在**无生命培养基中**能生长繁殖的**最小原核细胞型微生物**。该微生物由 Noccard 等于 1898 年分离出来,1967 年被正式命名为支原体。

第一节 概 述

根据 16S rRNA 和 23S rRNA 进化树同源性分析,将支原体归属于**柔膜菌门**(Tenericutes),**柔膜体纲**(Mollicutes),柔膜体纲有四个目(Order),7 个科(Family),11 个属(Genus)。**支原体目**(Mycoplasmatales)分为 2 个科,**支原体科**(Mycoplasmataceae)下分 2 个属:**支原体属**(*Mycoplasma*)和**脲原体属**(*Ureaplasma*),其中支原体属有 132 个种,脲原体属有 7 个种。从人体中分离出的支原体有 16 个种,其中对人类致病性支原体主要有**肺炎支原体**(*M. pneumoniae*)、**人型支原体**(*M. hominis*)、**生殖支原体**(*M. genitalium*)、**嗜精子支原体**(*M. spermatophilum*);条件致病支原体主要有**发酵支原体**(*M. fermentans*)、**穿透支原体**(*M. penetrans*)、**梨支原体**(*M. pirum*)、**解脲脲原体**(*Ureaplasma urealyticum*)和**微小脲原体**(*Ureaplasma parvum*)。

一、生物学性状

1. 形态与结构 菌体大小一般在 0.3~0.5μm。基因组为环状双股 DNA,在 600~2200kb 之间(约为大肠杆菌的 1/5),G+C mol% 低,仅 25%~40%。支原体无细胞壁,不能维持固定的形态而呈**高度多形性**,有球形、杆形、丝状和分枝状等多种形态(图 18-1)。革兰染色为阴性,但不易着色,一般以 Giemsa 染色较佳,染为淡紫色。支原体的细胞膜厚 7.5~10nm,可分外、中、内三层,内外两层为蛋白质及糖类,中层为脂类,主要为磷脂。**胆固醇**位于磷脂分子之间,对保持细胞膜的完整性具有一定的作用。凡能作用于胆固醇的物质,如皂素、洋地黄苷、两性霉素 B 等均能破坏支原体的细胞膜而导致其死亡。有的支原体在细胞膜外产生一种由多聚糖构成的**荚膜或微荚膜**。有些支原体具有一种特殊的**顶端结构**,能黏附在宿主上皮细胞表面,与支原体的致病有关。

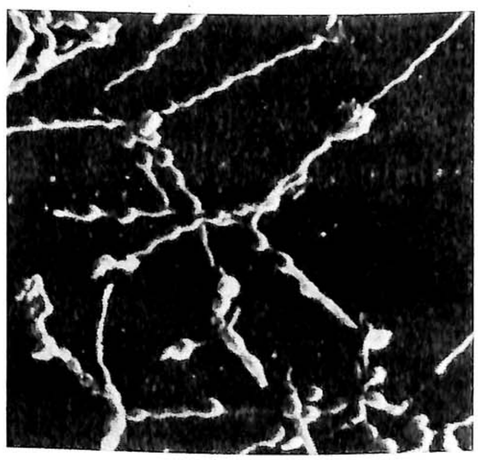


图 18-1 肺炎支原体的形态(扫描电镜 ×10 000)

2. 培养特性 支原体对营养物质的要求高于一般细菌,需加入 10%~20% 人或动物血清以提供**胆固醇与其他长链脂肪酸**。多数支原体还需添加酵母浸液、组织浸液、核酸提取物、辅酶等才能生长。

大部分支原体适宜的 pH 为 7.6~8.0,低于 7.0 易死亡,但解脲脲原体最适的 pH 为 5.5~6.5。支原体兼性厌氧,但大多数寄生性支原体在 37℃时在微氧环境(含 5% CO_2 和 90% N_2)中生长最佳。

支原体的繁殖方式多样,**除二分裂繁殖外,还有分节、断裂、出芽或分枝等**方式。繁殖时胞浆分裂往往落后于基因组的复制,故可形成多核丝状体。大部分支原体繁殖速度比细菌慢,在合适环境中孵育,约 3~4 小时繁殖一代,在琼脂含量较少的固体培养基上,2~7 天长出直径约

笔记

10~600μm 的典型的**"油煎蛋"样菌落**(图 18-2)。低倍镜下观察菌落呈圆形,中心致密隆起,深入琼脂,外周由颗粒包绕;在液体培养基中支原体增殖量不超过 10^6~10^7/ml **颜色变化单位**(color changing unit,CCU,将支原体接种在一定量的鉴别培养基中,能分解底物并使指示剂变色的最小支原体量),故液体清亮。

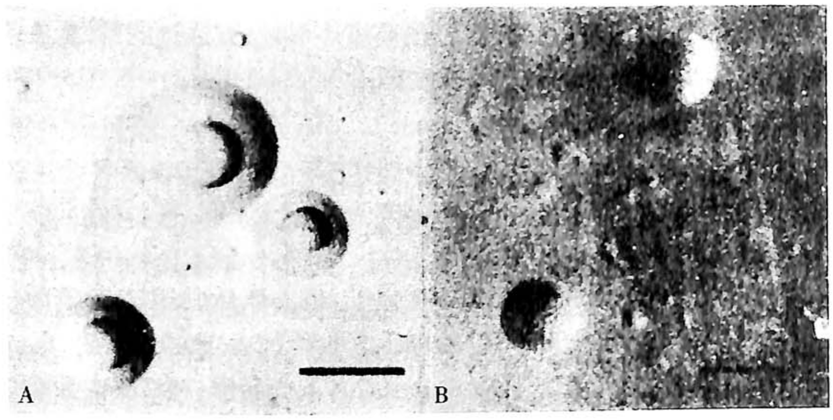


图 18-2 肺炎支原体的菌落
A. 传代"油煎蛋"样菌落;B. 原代菌落
(Chanick RM, et al.Proc Nat Acad Sci, USA, 1932, 48 :41)

支原体有许多特性与 L 型细菌相似,如无细胞壁呈多形性、能通过滤菌器、对低渗敏感、"油煎蛋"样菌落,但 L 型细菌在无抗生素等诱导因素作用下易返祖为原菌,支原体则在遗传上与细菌无关。

3. 生化反应 根据支原体分解葡萄糖、精氨酸和尿素的能力,可鉴别支原体(表 18-1)。

表 18-1 人类主要支原体的生化反应

支原体	葡萄糖	精氨酸	尿素	pH	吸附细胞
肺炎支原体	+	–	–	7.5	红细胞
人型支原体	–	+	–	7.3	–
生殖支原体	+	–	–	7.5	红细胞
嗜精子支原体	–	+	–	7.5	–
发酵支原体	+	+	–	7.5	–
穿透支原体	+	+	–	7.5	红细胞,CD_4^+ T 细胞
解脲脲原体	–	–	+	6.0	红细胞[a]

a:仅血清 3 型

4. 抗原结构 支原体细胞膜上的抗原结构由蛋白质和糖脂组成。各种支原体均有其特有的抗原结构,交叉较少,在鉴定支原体时有重要意义。用补体结合试验可检测糖脂类抗原,用 ELISA 试验可检测蛋白质类抗原。支原体的血清抗体可用于**生长抑制试验**(growth inhibition test,GIT)和**代谢抑制试验**(metabolic inhibition test,MIT)以鉴定支原体,特异性与敏感性高。GIT 法的操作步骤与药敏试验的纸片法相似,将含有特异性抗血清的纸片贴于接种有支原体的琼脂平板表面,若两者相对应则纸片周围生长的菌落受到抑制。MIT 试验是将支原体接种在一个含有抗血清与酚红的葡萄糖培养基中,若抗体与支原体相对应,则支原体的生长、代谢受到抑制,酚红不变颜色。应用这两种方法还可将某些支原体分成若干血清型,如解脲脲原体可分为 14 型。

5. 抵抗力 支原体因无细胞壁,对理化因素的抵抗力比细菌弱。对化学消毒剂敏感,但对结晶紫、醋酸铊、亚碲酸钾有抵抗力,在培养基中加入适当浓度的上述物质可作为分离培养时防

笔记

止杂菌污染的抑制剂。支原体对影响细胞壁合成的抗生素如青霉素类天然耐受，但对干扰蛋白质合成的抗生素如多西环素、交沙霉素等敏感，对作用于DNA旋转酶而阻碍DNA复制的喹诺酮类药物如左旋氧氟沙星、司帕沙星等敏感。

二、致病性与免疫性

1. 致病性 支原体广泛存在于人和动物体内，大多不致病。对人致病的支原体主要通过以下机制引起细胞损伤：①黏附素，有些支原体（肺炎支原体、生殖支原体等）具有**黏附素**，能黏附于呼吸道或泌尿生殖道上皮细胞的**黏蛋白受体上**，导致宿主细胞损伤；②**荚膜或微荚膜**，具有抗吞噬作用；③**毒性代谢产物**，如神经毒素、磷脂酶C、核酸酶、过氧化氢和超氧离子均能引起宿主黏膜上皮细胞或红细胞的病理损伤；④超抗原（superantigen），它是支原体产生的一类具有免疫调节活性的蛋白，能在感染部位刺激炎症细胞，分泌大量的细胞因子，开始为TNF-α 和IL-1，随后为IL-6，从而引起组织损伤。另外，穿透支原体能黏附并侵入$CD4^+$ T淋巴细胞，导致免疫损伤。

2. 所致疾病 不同支原体感染机体的部位不同，因而可引起不同类型的疾病（表18-2）。

表18-2 人类致病支原体的感染部位与所致疾病

支原体	感染部位	所致疾病
肺炎支原体	呼吸道	上呼吸道感染、非典型肺炎、支气管炎、肺外症状（皮疹、心血管和神经系统症状）
人型支原体	呼吸道、生殖道	附睾炎、盆腔炎、产褥热、慢性羊膜炎，新生儿肺炎、脑炎、脑脓肿
生殖支原体	生殖道	尿道炎、宫颈炎、子宫内膜炎、盆腔炎、不育
嗜精子支原体	生殖道	不孕、不育
发酵支原体	呼吸道、生殖道	流感样疾病、肺炎
解脲脲原体	生殖道	非淋菌性尿道炎、尿路结石等
穿透支原体	生殖道	协同HIV致病

3. 免疫性 人体感染支原体后可产生特异的**细胞免疫**和**体液免疫**。抗膜蛋白的抗体包括IgM、IgG和sIgA，在抗支原体感染中发挥主要作用，特别是sIgA，在局部黏膜阻止支原体感染中起重要作用。

细胞免疫主要是**特异性$CD4^+$ Th1细胞**分泌细胞因子IL-2、TNF-α、IFN-γ 和GM-CSF，活化Mφ 清除支原体感染。免疫细胞在清除支原体的同时，释放大量炎症细胞因子，也能引起自身组织损伤。

第二节 主要致病性支原体

一、肺炎支原体

（一）生物学性状

菌体大小为0.2~0.3μm，呈高度多形性，如球形、球杆状、棒状、分枝状和丝状等。基因组大小为835kb，G+C mol%为38.6%。初次分离应培养于含足量血清和新鲜酵母浸出液的培养基中，一般10天左右长出菌落，呈致密圆形，深入琼脂，无明显边缘。多次传代后，生长加快，菌落呈**"油煎蛋"状**。肺炎支原体能发酵葡萄糖，不能利用精氨酸与尿素，能产生过氧化氢，对豚鼠红细胞呈现β溶血环，对亚甲蓝、醋酸铊、青霉素不敏感。

笔记

（二）致病性与免疫性

肺炎支原体主要经**飞沫传播**，一年四季都可发病，但大多数发生于**夏末秋初**，以5~15岁的青少年发病率最高。

肺炎支原体依靠其**顶端结构**中的P1表面蛋白（170kDa）和P30（32kDa）作为主要的**黏附蛋白**，能使肺炎支原体黏附于呼吸道上皮细胞，定居后进入细胞间隙，产生代谢产物过氧化氢，使宿主细胞的触酶失去活力，纤毛运动减弱、停止乃至脱落消失，RNA及蛋白质合成减少，功能受损以至死亡脱落。肺炎支原体具有**超抗原**作用，能刺激炎症细胞在感染部位释放大量的淋巴因子（如TNF-α、IL-1、IL-6）引起组织损伤。

肺炎支原体感染引起的病理改变以**间质性肺炎**为主，又称**原发性非典型性肺炎**（primary atypical pneumonia），临床症状较轻，以咳嗽、发热、头痛、咽喉痛和肌肉痛为主。5~10天后消失，但肺部X线改变持续4~6周才能消失。有时并发支气管肺炎，个别病人可见呼吸道外的并发症，如皮疹、心血管和神经系统症状，这可能与免疫复合物的形成和自身抗体出现有关。

肺炎支原体感染后可产生血清特异性IgM、IgG及sIgA和致敏的淋巴细胞，但体液抗体保护作用不完全。呼吸道局部黏膜产生的**sIgA**对防止再感染有较强的保护作用。肺炎支原体感染后可出现IgE介导的Ⅰ型超敏反应，促使哮喘病急性发作。婴儿有从母体获得的抗体，以后逐渐消失。

（三）微生物学检查法

1. 分离培养 取可疑患者的痰或咽拭子接种在含血清和酵母浸液的琼脂培养基或SP-4培养基，在5% CO_2与90% N_2的环境中，37℃培养1~2周，挑选可疑菌落经形态、糖发酵、溶血性、血细胞吸附试验进行初步鉴定，进一步鉴定需用特异性抗血清做GIT与MIT。肺炎支原体的分离培养阳性率不高，且需要时间长，故不适宜用于临床快速诊断。

2. 血清学检查 临床上常用冷凝集试验(即用病人血清与人O型血RBC或自身RBC混合，4℃过夜时可发生凝集，而在37℃时其凝集又分散开)，但仅50%左右患者出现阳性。此反应为非特异性，感染呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、流感病毒等时也可出现冷凝集现象。

3. 快速诊断 目前临床诊断倾向抗原和核酸检测。方法有：①应用P1蛋白和P30蛋白的单克隆抗体通过ELISA从患者痰、鼻洗液或支气管灌洗液中检测肺炎支原体；②用PCR技术从患者痰液标本中检测肺炎支原体的16S rRNA基因或P1蛋白基因。此法快速，特异性和敏感性高，适宜大量临床标本检查。

（四）防治原则

肺炎支原体减毒活疫苗和DNA疫苗在动物实验中有一定的预防效果，但在人群中的应用尚未见报道。目前肺炎支原体感染多采用大环内酯类药物如罗红霉素、克拉霉素、阿奇霉素或喹诺酮类药物如氧氟沙星、司帕沙星等治疗有效，但有耐药株产生。

二、人型支原体

人型支原体形态结构为球杆状，基因组大小为700kbp，G+C mol%为33.7%。能分解精氨酸，不分解尿素和葡萄糖。最适pH为7.2~7.4。对1∶2000的醋酸铊与红霉素（100mg/L）不敏感，对四环素与林可霉素敏感。在液体培养基中，人型支原体能分解精氨酸产生氨使pH增至7.8以上而死亡。在固体培养基上，形成200~300μm的较大菌落，呈典型的“油煎蛋”状。

人型支原体是寄居于泌尿生殖道的一种支原体，主要通过**性接触传播**，在男性可引起附睾炎，女性主要引起盆腔炎、慢性羊膜炎和产褥热，新生儿可引起肺炎、脑炎及脑脓肿。

人型支原体实验室检查最好的方法是分离培养与核酸检测。

1. 病原体检测 取泌尿生殖道标本0.1~0.2ml接种于液体培养基，培养24~48小时后，分解精氨酸产碱，酚红指示剂由淡红色变为红色，再取0.2ml培养物转种于固体培养基，在5% CO_2

笔记

和 90% N_2 的环境中经 37℃培养 24~48 小时，用低倍镜观察菌落；取可疑菌落经形态、pH、锰盐的氧化和生化反应做初步鉴定，进一步鉴定需用特异抗血清做 GIT 与 MIT。

2. 核酸检测 用 PCR 从患者泌尿生殖道标本中检测 16S rRNA 基因。此法快速、特异，适宜于大批量标本检测。

3. 防治原则 加强宣传教育，注意性卫生，切断传播途径。人型支原体对红霉素不敏感，感染者可用四环素类、喹诺酮类药物治疗，但有耐药株产生。

三、生殖支原体

生殖支原体基本形态为烧瓶状，长 0.6~0.7μm，底宽 0.3~0.4μm，顶宽 0.06~0.08μm，有一明显的颈部，宽约 7nm。基因组大小为 580kbp，G+C mol% 为 32.4%。生殖支原体能发酵葡萄糖和其他碳水化合物使培养基变酸，不分解尿素和精氨酸。在普通支原体培养基中不生长，须在不含醋酸铊的 SP-4 培养基中生长，但生长缓慢，菌落呈典型的“油煎蛋”状。生殖支原体的**顶端结构**有黏附素 MgPa，其分子量为 140kDa，与肺炎支原体 P1 黏附蛋白在血清学上有明显的交叉反应。

生殖支原体能通过性接触传播，能黏附在人类泌尿生殖道上皮细胞上，主要引起**尿道炎、宫颈炎、子宫内膜炎和盆腔炎，与男性不育有关**。

该支原体较难培养，生长慢，不适宜于常规实验室分离培养。实验室最好的诊断方法是核酸检测。目前已用于 PCR 检测的基因有 16S rRNA 和 MgPa 基因，此方法特异性、敏感性高。

四、穿透支原体

穿透支原体的形态为烧瓶状，宽 0.2~0.4μm，长 0.8~2μm。一端为顶端结构，具有黏附与穿入细胞的作用。基因组大小为 1358kb，G+C mol% 为 30.5%。穿透支原体能发酵葡萄糖，分解精氨酸，不分解尿素，四氮唑盐还原阳性，具有磷脂酶活性。在 SP-4 培养基上生长较慢，形成典型的“油煎蛋”状菌落。

目前认为穿透支原体是一种条件致病菌，可能**是 AIDS 发病的一个辅助因素**。该菌能通过性接触传播，依靠**顶端结构**黏附于人尿道上皮细胞、单核细胞、CD_4^+ T 淋巴细胞，并能穿过细胞膜进入细胞内繁殖，导致宿主细胞受损或死亡。

五、解脲脲原体

(一) 生物学性状

解脲脲原体直径 0.05~0.3μm，多为单个或成双排列。基因组大小为 750kb，G+C mol% 为 27.5%~28.5%。生长除需要胆固醇外，还须添加酵母浸液。在固体培养基上，48 小时后长出直径 15~30μm 的**“油煎蛋”样菌落**。能**分解尿素**，不分解糖类和精氨酸，磷脂酶阴性，四唑氮盐还原阴性。最适 pH 为 5.5~6.5。对 1 ： 2000 的醋酸铊不敏感。在液体培养基中生长分解尿素产生 NH_3，使 pH 上升而死亡。

根据细胞膜**多带抗原**（MB-Ag）不同，将解脲脲原体分为 14 个血清型，2 个生物型。1 生物型（2、4、5、7、8、9、10、11、12、13 型）均有 16kDa 和 17kDa 多肽；2 生物型（1、3、6、14 型）仅有 17kDa 多肽。根据 16S rRNA 基因和 16~23S rRNA 间区将 14 个血清型分为 2 个种，即解脲脲原体和微小脲原体。

(二) 致病性与免疫性

解脲脲原体为条件致病菌，主要通过**性接触传播**，引起**非淋菌性尿道炎**、尿路结石等。其致病物质及机制主要包括以下几个方面：①黏附于宿主细胞表面，从宿主细胞膜吸取脂质与胆固醇，引起细胞膜损伤；②定居在泌尿生殖道上皮细胞，产生毒性代谢产物如 NH_3，对宿主细胞有

笔记

急性毒性作用；③具有人 IgA 特异蛋白酶，降解 IgA1，使黏膜屏障受损；④具有磷脂酶，以宿主细胞膜上的卵磷脂为底物，溶解磷脂，损伤宿主的细胞膜，影响膜的生物合成与免疫功能。

解脲脲原体感染后，可检测到 IgM、IgG 和 sIgA 类抗体。在急性期，有 83% 患者的 IgM 升高，这对早期诊断有一定意义。IgG 只能作流行病学调查，**sIgA 对防止再感染有保护作用**。

（三）微生物学检查与防治原则

解脲脲原体病原体检测与防治原则与人型支原体相同，核酸检测可从患者泌尿生殖道标本中检测尿素酶基因、多带抗原（MB-Ag）基因和 16S rRNA 基因。

（吴移谋）

笔记

第十九章 立克次体

第一节 概　述

立克次体(rickettsia)是一类以节肢动物为传播媒介、严格细胞内寄生的革兰阴性细菌。立克次体是美国病理学和微生物学家 Howard Taylor Ricketts 于 1909 年在研究落矶山斑疹热和鼠型斑疹伤寒时首先发现的，在研究期间 Ricketts 不幸感染斑疹伤寒而献身。1916 年巴西学者 Da Rocha Lima 从斑疹伤寒病人的体虱中首次分离出病原体。为纪念 Rickertts，将以后陆续发现的这一类微生物统称为立克次体(Rickettsia)。1934 年，我国学者谢少文首先应用鸡胚成功地培养出立克次体，为人类认识立克次体作出了重大贡献。

根据国际最新分类，**立克次体目**(Rickettsiales)分为**立克次体科**(Rickettsiaceae)和**无形体科**(Anaplasmataceae)，前者包括立克次体属(*Rickettsia*)和东方体属(*Orientia*)；后者分为无形体属(*Anaplasma*)、埃立克次体属(*Ehrlichia*)、新立克次体属(*Neorickettsia*)和沃巴哈属(*Wolbachia*)。目前发现对人类有致病作用的立克次体主要包括：立克次体属的斑疹伤寒群(typhus group)与斑点热群(spotted fever group)立克次体；东方体属的恙虫病东方体(*O. tsutsugamushi*)；无形体属的嗜吞噬细胞无形体(*A. phagocytophilum*)；埃立克次体属的查菲埃立克次体(*E. chaffeensis*)和伊文埃立克次体(*E.ewingii*)；新立克次体属的腺热新立克次体(*N. sennetsu*)。原来的巴通体属现归于根瘤菌目巴通体科，柯克斯体属现归于军团菌目柯克斯体科。

由于不同的立克次体的节肢动物传播媒介的地理分布不同，各种立克次体病的流行也有明显的地区性。我国较常见的立克次体病有流行性斑疹伤寒、地方性斑疹伤寒、恙虫病等。近年来世界范围内新发立克次体病不断出现，如人粒细胞无形体病及人单核细胞埃立克体病等。常见立克次体的分类、所致疾病、流行环节和地理分布见表 19-1。

表 19-1　常见立克次体的分类、所致疾病和流行环节

属	群	种	所致疾病	传播媒介	储存宿主	地理分布
立克次体属	斑疹伤寒群	普氏立克次体(*R. prowazekii*)	流行性斑疹伤寒	人虱	人	世界各地
		斑疹伤寒立克次体(*R. typhi*)	地方性斑疹伤寒	鼠蚤、鼠虱	啮齿类	世界各地
	斑点热群	立氏立克次体(*R. rickettsii*)	落矶山斑疹热	蜱	啮齿类，狗	西半球
		澳大利亚立克次体(*R. australis*)	昆士兰蜱热	蜱	啮齿类	澳大利亚
		康氏立克次体(*R. conorii*)	地中海斑点热	蜱	啮齿类，狗	地中海地区、非洲、南亚
		西伯利亚立克次体(*R. sibirica*)	北亚蜱传斑疹伤寒	蜱	啮齿类	北亚、蒙古
		小蛛立克次体(*R. akari*)	立克次体痘	螨	鼠	美国、东北亚、南非

笔记

续表

属	群	种	所致疾病	传播媒介	储存宿主	地理分布
东方体属		恙虫病东方体 (*O. tsutsugamushi*)	恙虫病	恙螨	啮齿类	亚洲、大洋洲
		查非埃立克体 (*E. chaffeensis*)	人单核细胞埃立克体病	蜱	人、狗	美国
		伊文埃立克体 (*E. ewingii*)	人粒细胞埃立克体病	蜱	狗、人	美国
无形体属		嗜吞噬细胞无形体 (*A. phagocytophilum*)	人粒细胞无形体病	蜱	人、狗、马	美国、欧洲、亚洲
新立克次体属		腺热新立克次体 (*N.sennetsu*)	sennetu 热或腺热	吸虫	鱼？蜗牛？	日本、马来西亚

立克次体的共同特点：①为革兰阴性小细菌；②有细胞壁，但形态多样；③专性细胞内寄生，以二分裂方式繁殖；④以节肢动物作为传播媒介或储存宿主；⑤多数是人兽共患病的病原体，在人类引起发热出疹性疾病；⑥对多种抗生素敏感。

一、生物学性状

1. 形态染色 **形态多样，以球杆状或杆状为主**(图 19-1)。大小约(0.2~0.6)×(0.8~2.0)μm，均可在光学显微镜下观察到；有细胞壁，革兰染色阴性，但不易着色，常用 Giemsa 染色法，立克次体被染成紫色或蓝色，常有两极浓染。也可用 Gimenez 染色法或 Macchiavello 染色法，前者立克次体被染成红色，后者呈红色或紫色。

2. 结构 大多数立克次体结构**与一般革兰阴性菌相似**，有细胞壁和细胞膜。斑疹伤寒群与斑点热群立克次体细胞壁含肽聚糖和脂多糖，但东方体、埃立克体及无形体细胞壁均不含肽聚糖和脂多糖。细胞壁上有外膜蛋白 OmpA 和 OmpB 等，这些表面蛋白能与宿主细胞表面受体结合介导立克次体黏附并侵入宿主细胞内。表面蛋白是体液免疫应答的主要抗原，也是血清分型的基础。多数立克次体细胞壁外有多糖组成的微荚膜样黏液层，此黏液层具有黏附宿主细胞和抗吞噬作用，与其致病性有关。

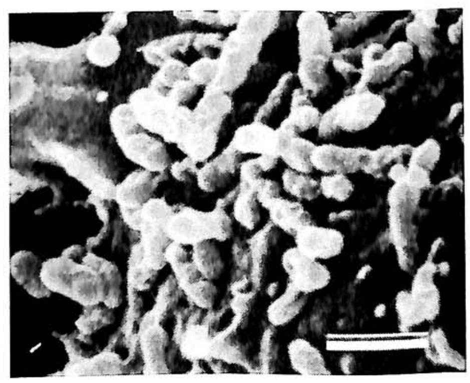


图 19-1 斑疹伤寒立克次体
(扫描电镜，bar=1μm)

3. 培养特性 立克次体由于酶系统不完善，缺乏细胞器，故为**专性细胞内寄生；以二分裂方式繁殖**，生长速度缓慢，9~12 小时分裂一代，最适生长温度为 34℃。可用**细胞培养法和鸡胚卵黄囊接种**进行培养。也可**接种动物**，常用动物有豚鼠、大鼠、小鼠和家兔。多种病原性立克次体在豚鼠和小鼠体内生长繁殖良好。

4. 抗原结构 立克次体具有**群特异性和种特异性抗原**，前者主要由脂多糖构成，后者主要由外膜蛋白构成。斑疹伤寒群立克次体和恙虫病东方体与普通变形杆菌的某些 X 菌株的菌体抗原有共同抗原成分，故可用这些菌株的菌体抗原(如 OX_{19}、OX_2、OX_K)代替立克次体抗原检测患者血清中相应抗体，此交叉凝集试验称**外斐反应**(Weil-Felix reaction)，可辅助诊断立克次体病(表 19-2)，但由于敏感性低、特异性差，目前已较少应用。

5. 抵抗力 大多数立克次体抵抗力均较弱，56℃ 30 分钟即被灭活，用 5g/L 苯酚和 75% 乙醇处理数分钟即可失活。置 -20℃或冷冻干燥可保存约半年，在节肢动物粪便中可存活数月。

笔记

对氯霉素和四环素类抗生素敏感，但**磺胺类药物可促进其生长繁殖**。常见立克次体的主要生物学性状见表 19–2。

表 19–2　常见立克次体的主要生物学性状

种类	肽聚糖	脂多糖	主要靶细胞	生长位置	外斐反应		
					OX_{19}	OX_2	OX_K
普氏立克次体	+	+	内皮细胞	分散细胞质内	+++	+	–
斑疹伤寒立克次体	+	+	内皮细胞	分散细胞内外	+++	+	–
立氏立克次体	+	+	内皮细胞	细胞质和核质区	+++	+	–
恙虫病东方体	–	–	内皮细胞	成堆密集于核旁	–	–	+++
查非埃立克体	–	–	单核细胞和巨噬细胞	吞噬体内	–	–	–
嗜吞噬细胞无形体	–	–	粒细胞和内皮细胞	吞噬体内	–	–	–

二、致病性和免疫性

1. 流行环节　立克次体以**节肢动物**作为**传播媒介**或**储存宿主**，**啮齿类动物**等亦常成为**寄生宿主**和**储存宿主**。

2. 所致疾病　大多数立克次体引起**人兽共患性疾病**，绝大多数为**自然疫源性疾病**，其流行有明显的地区性。临床表现以发热、头痛、皮疹、肝脾肿大等为特征。立克次体易**引起实验室感染**，故在进行立克次体研究或临床标本检测时应注意**生物安全**。常见立克次体病的所致疾病见表 19–1。

3. 致病机制　立克次体属**主要感染的靶细胞是血管内皮细胞**，**主要致病物质是脂多糖和磷脂酶 A**，前者具有与细菌内毒素相似的毒性，后者可破坏细胞膜和吞噬体膜，并促进立克次体从细胞内吞噬体中释放到细胞质中繁殖。立克次体侵入人体后，首先在局部血管内皮细胞中大量繁殖，引起局部血管病变后进入血流引起第一次菌血症，随后进入全身脏器小血管内皮细胞中繁殖，再次释放进入血流引起第二次菌血症，导致皮疹及脏器功能紊乱。早期病变主要由脂多糖引起，晚期病变由免疫病理所致。**埃立克体属和无形体属感染的靶细胞主要是白细胞，前者感染单核细胞和巨噬细胞，后者感染中性粒细胞**。致病机制主要是免疫病理损伤，通过影响宿主细胞基因转录、细胞凋亡、细胞因子产生紊乱、吞噬功能缺陷等造成免疫病理损伤。

4. 免疫力　感染后机体可产生抗病原体及其毒素的相应抗体，但立克次体为细胞内感染，故**细胞免疫较体液免疫更为重要**。病后可获得抵抗再感染的部分免疫力，但可以复发。

第二节　主要致病性立克次体

一、普氏立克次体

普氏立克次体（*R.prowazekii*）是**流行性斑疹伤寒**（epidemic typhus）或称**虱传斑疹伤寒**（louse–borne typhus）的病原体。为纪念首先发现该病原体并在研究中不幸感染而死的捷克科学家 Stanislav von Prowazek 而命名。

（一）生物学性状

1. 形态与染色　普氏立克次体呈多形性，以短杆状为主，大小约（0.3~0.8）μm ×（0.6~2.0）μm。革兰染色阴性，着色较淡；Gimenez 染色呈鲜红色；Giemsa 染色呈紫色或蓝色；Macchiavello 染色呈红色。**在感染细胞胞质内分散存在**，呈单个或短链状排列。

2. 培养特性　目前采用鸡胚成纤维细胞、L929 细胞和 Vero 细胞进行分离和培养。动物接

笔记

种常采用雄性豚鼠和小鼠，鸡胚卵黄囊接种常用于普氏立克次体的传代培养。

3. 抗原构造 细胞壁有两类抗原，一类为群特异性的可溶性抗原，是细胞壁的脂多糖成分，耐热；另一类为种特异性抗原，为细胞壁外膜蛋白，不耐热。另外，普氏立克次体与普通变形杆菌 X_{19} 和 X_2 株有共同多糖抗原成分。

4. 基因组 普氏立克次体 Madrid E 株染色体由 1 111 523bp 组成，为环状 DNA。

5. 抵抗力 普氏立克次体对热敏感，在 4℃水溶液中 24 小时失去活性；耐低温和干燥，在干虱粪中能保持活性两个月左右。5g/L 苯酚 5 分钟可灭活。对四环素类和氯霉素类抗生素敏感。磺胺可刺激其繁殖。

（二）致病性与免疫性

1. 流行环节 流行性斑疹伤寒在世界各地均可发生流行。**病人是普氏立克次体的储存宿主和传染源，人虱（体虱）是传播媒介**。传播方式是虱－人－虱。人虱叮咬病人并吸血，血中普氏立克次体进入人虱体内，在肠管上皮细胞内生长繁殖，破坏肠管上皮细胞，并随粪便排出体外。人虱感染普氏立克次体 7~10 天后死亡，且不经卵传代，故人虱只是传播媒介而非储存宿主。当感染的人虱叮咬人时，普氏立克次体随粪便排泄于人的皮肤上，由于瘙痒而抓伤，普氏立克次体便可经损伤的皮肤侵入人体内致病。由于普氏立克次体的感染性在干燥的虱粪中能保持 2~3 月，故也可经含普氏立克次体的气溶胶通过呼吸道或眼结膜感染。

2. 致病性 普氏立克次体的致病物质主要是**脂多糖和磷脂酶 A**。脂多糖可刺激单核巨噬细胞产生 IL-1 和 TNF-α。IL-1 具有致热性，引起发热；TNF-α 引起血管内皮细胞损伤、微循环障碍、中毒性休克和播散性血管内凝血等。磷脂酶 A 能溶解宿主细胞膜或吞噬体膜，有利于立克次体进入宿主细胞并在细胞内生长繁殖。此外，**微荚膜样黏液层**有助于其黏附于宿主细胞，并具有抗吞噬作用。

当普氏立克次体侵入皮肤后，与局部淋巴组织或小血管内皮细胞表面特异性受体结合而被吞入胞内，依靠磷脂酶 A 溶解吞噬体膜的甘油磷脂进入细胞质内大量繁殖，导致细胞中毒破裂，释放出立克次体，引起第一次立克次体血症。立克次体经血流扩散至全身组织器官的小血管内皮细胞，在其中大量增殖释放入血，导致第二次立克次体血症。立克次体崩解释放内毒素等毒性物质，形成毒血症，并损害血管内皮细胞，造成血管通透性增加，血浆渗出，有效循环血量下降。其主要病理改变为血管内皮细胞增生，血管壁坏死，血栓形成，造成皮肤、心、肺和脑等多脏器的血管周围组织的广泛性病变。

普氏立克次体所致疾病为流行性斑疹伤寒。潜伏期为 10~14 天，发病急，高热，剧烈头痛和周身疼痛，4~7 天出现皮疹。婴幼儿发病率低，感染多见于成年人，50 岁以上的人发病率高，60 岁以上的患者死亡率高。

部分流行性斑疹伤寒患者病愈后普氏立克次体可持续存在淋巴结和血管内皮细胞内，数年后在一定条件下重新繁殖引起复发性感染，称为 Brill-Zinsser 病。Brill-Zinsser 病临床表现较原发感染轻，但若有人虱流行，也可导致流行性斑疹伤寒流行。

3. 免疫性 普氏立克次体严格细胞内寄生，抗感染以细胞免疫为主，体液免疫为辅。CTL 细胞溶解杀伤感染立克次体的血管内皮细胞，Th1 细胞释放细胞因子 IFN-γ 增强巨噬细胞的吞噬和杀伤功能；B 细胞产生的群和种特异抗体具有促进吞噬细胞的吞噬功能、阻断立克次体的再次感染、中和其毒性物质的作用。同时，免疫作用也增加了对机体的病理性损害。病后患者可获得较牢固的免疫力，与斑疹伤寒立克次体的感染有交叉免疫力。

（三）微生物学检查

普氏立克次体的微生物学检查主要是血清学检测和病原体的分离鉴定，这对临床确诊和流行病学调查均有重要意义。因立克次体特别容易引起实验室污染，必须严格遵守实验室操作规程，注意防止感染事故的发生。

1. 标本采集 一般在发病急性期、尚未用抗生素之前采血标本，以提高阳性分离率。血清学试验需采集急性期与恢复期双份血清，以观察抗体滴度是否增长。

2. 分离培养 由于标本中立克次体含量较低，直接镜检意义不大。可将标本接种在雄性豚鼠的腹腔内，接种后若体温 > 40℃或阴囊有红肿，表示已发生感染；若体温 > 40℃而阴囊无红肿，则取动物脑组织用豚鼠继续传代，立克次体增殖至一定数量后方可用鸡胚卵黄囊或细胞传代，采用免疫荧光等试验进行鉴定。

3. 血清学检测 是目前诊断立克次体感染的主要方法。过去常用外斐反应辅助诊断斑疹伤寒，由于该试验敏感性低、假阳性率高，目前已不推荐使用。可用特异性外膜蛋白抗原或者脂多糖抗原通过微量免疫荧光（microimmunofluorescence，MIF）法检测特异性抗体。由于脂多糖抗原是多种立克次体共有的抗原，因此必须用免疫印迹方法确定立克次体的种类。

4. 分子生物学检测 可应用 PCR 或 Real-time PCR 法检测外膜蛋白基因、脂蛋白基因或者 16S rRNA 基因。

（四）防治原则

1. 预防原则 流行性斑疹伤寒的预防主要应改善生活条件，讲究个人卫生，消灭体虱，加强个人防护。特异性预防采用由 γ 射线辐射的全细胞灭活鼠肺疫苗和鸡胚疫苗等，具有一定的免疫作用，免疫力可持续一年。

2. 治疗原则 氯霉素和四环素类抗生素对普氏立克次体和其他立克次体均有效，可缩短病程，降低死亡率。同时应增强机体免疫力，特别是细胞免疫功能。禁用磺胺类药物。

二、斑疹伤寒立克次体

斑疹伤寒立克次体（*R. typhi*）或称**莫氏立克次体**（*R. mooseri*）是**地方性斑疹伤**（endemic typhus）或称**鼠型斑疹伤寒**（murine typhus）的病原体。Mooser 等于 1931 年分别从该疾病流行的墨西哥的鼠脑和美国的鼠虱中分离出来。

（一）生物学性状

斑疹伤寒立克次体的形态与染色性、菌体结构、抗原构造、培养特性和抵抗力均与普氏立克次体相似，但斑疹伤寒立克次体可分布于感染细胞内外且链状排列少见。

（二）致病性和免疫性

1. 流行环节 地方性斑疹伤寒可在世界各地散发，但主要发生在非洲和南美洲。**啮齿类动物（主要为鼠）是斑疹伤寒立克次体的主要传染源和储存宿主。鼠蚤和鼠虱是主要传播媒介**。斑疹伤寒立克次体通过鼠蚤和鼠虱在鼠间传播。当鼠蚤叮吮人血时，可将斑疹伤寒立克次体传染给人，再通过人虱在人群中传播。斑疹伤寒立克次体在鼠蚤肠管上皮细胞内增殖，破坏细胞，并随粪便排出，但鼠蚤一般不因感染而死亡，故鼠蚤亦是储存宿主。人也可通过口、鼻和眼结膜等途径接触鼠蚤粪便而感染。

2. 所致疾病 斑疹伤寒立克次体的致病物质和致病机制与普氏立克次体相似。地方性斑疹伤寒潜伏期 8~12 天，发病缓慢，病程较短，临床症状与流行性斑疹伤寒相似，但较轻，很少累及中枢神经系统和心肌，病死率低于 1%。

3. 免疫性 斑疹伤寒立克次体感染的免疫以细胞免疫为主，体液免疫为辅，在发病后 1~2 周可检测到抗体。病后可获得较牢固的免疫力，与普氏立克次体的感染有交叉免疫力。

（三）微生物学检查法

常用特异性间接免疫荧光试验（indirect immunofluorescence assay，IFA）进行地方性斑疹伤寒的诊断，双份血清效价增加 4 倍或 4 倍以上或单份血清效价达到 1∶128 即有诊断意义。亦可将患者标本接种于雄性豚鼠腹腔，若有斑疹伤寒立克次体感染，豚鼠可出现发热，同时伴有明显的阴囊红肿和鞘膜反应（Neill-Mooser reaction）。其他检查方法同普氏立克次体。

笔记

(四) 防治原则

预防措施主要是要改善居住条件，讲究个人卫生，灭虱、灭蚤和灭鼠。流行区人群接种疫苗。采用氯霉素和四环素类抗生素治疗，禁用磺胺类药物。

三、恙虫病东方体

恙虫病东方体(*O.tsutsugamushi*)，原称恙虫病立克次体(*R. tsutsugamushi*)或东方立克次体(*R.orientalis*)，是**恙虫病**(tsutsugamushi disease)或称**丛林斑疹伤寒**(scrub typhus)的病原体。恙虫病属自然疫源性疾病，临床上以发热、焦痂或溃疡、淋巴结肿大及皮疹为主要特征。

(一) 生物学性状

1. 形态与染色 呈多形性，以短杆状或球杆状多见，大小为(0.2~0.6)×(0.5~1.5)μm。Giemsa 染色呈紫色或蓝色，Gimenez 染色呈暗红色，Macchiavello 染色呈紫红色。在感染细胞内密集分布于胞质内近核旁。

2. 结构 细胞壁的结构不同于立克次体属，无肽聚糖、脂多糖和微荚膜样黏液层。与普通变形杆菌 X_K 株有共同的多糖抗原。

3. 培养特性 对豚鼠不致病，小鼠易感。可在鸡胚卵黄囊和原代或传代细胞中生长。常用的原代细胞有地鼠肾细胞、睾丸细胞，传代细胞有 Vero 细胞、L929 细胞等。

4. 抵抗力 在外环境中的抵抗力较立克次体属弱，37℃ 2~3 小时后其活力大为下降。对一般消毒剂敏感。

(二) 致病性与免疫性

1. 流行环节 恙虫病主要流行于东南亚、西南太平洋岛屿、日本和我国的东南与西南地区。该病为自然疫源性疾病，主要在啮齿动物中传播。**鼠类感染后常无症状，但因长期携带病原体而成为主要传染源**。恙虫病东方体寄生于恙螨体内，可经卵传代。在恙螨生活史中，幼虫要吸取一次动物或人的组织液才能发育成稚虫，因此恙虫病东方体可通过恙螨幼虫叮咬在鼠间传播或使人感染。故**恙螨是恙虫病东方体的寄生宿主、储存宿主和传播媒介**。携带恙螨的兔与鸟类亦能成为传染源。

2. 致病性 恙虫病为一种急性传染病，人被恙螨叮咬后，经 7~10 天或更长的潜伏期后突然发病。恙虫病立克次体的致病物质尚未完全明了。目前认为恙虫病立克次体死后释放的毒素样物质是其主要致病因子。恙虫病立克次体主要在小血管内皮细胞内繁殖，以出芽方式释放，一般不破坏细胞，其释放的毒素样物质可引起全身中毒症状及组织器官的血管炎。临床表现为高热，剧烈头痛，淋巴结及肝脾肿大，并于叮咬处出现红斑样皮疹，然后形成水疱，水疱破裂后发生溃疡，周围红润，上覆黑色痂皮(称为焦痂)，是恙虫病的特征之一。

3. 免疫性 以细胞免疫为主，病后获得较为持久的免疫力。

(三) 微生物学检查

取急性期病人血液标本，接种于小鼠腹腔进行病原体的分离，或刮取濒死时小鼠腹膜进行涂片染色和形态学鉴定。亦可采用鸡胚卵黄囊接种或组织培养法分离病原体。间接免疫荧光检测患者血清中的特异性 IgM 抗体，效价 1∶80 有诊断意义，阳性率高于外裴反应，是目前常用的实验室诊断方法之一。分子生物学技术如 PCR、RFLP、基因序列分析等可用于病原体鉴定。

(四) 防治原则

在流行区要加强个人防护，防止恙螨幼虫叮咬，灭鼠除草，加快疫苗研制。采用氯霉素和四环素类抗生素治疗，禁用磺胺类药物。

四、嗜吞噬细胞无形体

笔记

嗜吞噬细胞无形体(*A. phagocytophilum*)，曾称人粒细胞埃立克体(human granulocytic

ehrlichiae)，原为埃立克体属，现归类于无形体属，是无形体属中对人致病的主要病原体，可引起人粒细胞无形体病(human granulocytic anaplasmosis，HGA)。1992年首次在美国明尼苏达州发现，目前美国多个洲及欧洲多个国家已报道存在人粒细胞无形体感染。我国近几年也有类似临床病例发现，特别是2006年11~12月安徽芜湖收治的群体性不明原因发热的疫情，首次由中国疾病预防控制中心确诊为人粒细胞无形体病，为我国新发传染病。嗜吞噬细胞无形体菌体呈球形、卵圆形等多形性，菌体平均长度为0.5~1.5μm，革兰染色阴性。该病原体主要寄生在中性粒细胞的胞质空泡内，繁殖后以膜包裹的形式存在于细胞质内，用Wright染色或改良Wright-Giemsa染色呈紫色或蓝色，类似衣原体包涵体，称桑椹体(morulae)。嗜吞噬细胞无形体的储存宿主是哺乳动物，如美国发现的白足鼠、白尾鹿，欧洲的红鹿、牛、山羊等。蜱是主要传播媒介，我国曾在黑龙江、内蒙古及新疆等地的全沟硬蜱中检测到嗜吞噬细胞无形体的核酸。蜱叮咬携带病原体的宿主动物后，再叮咬人时，病原体进入人体引起发病。直接接触危重病人或带菌动物的血液等体液，也可能导致传播。人对嗜吞噬细胞无形体普遍易感，各年龄组均可感染发病。高危人群主要为接触蜱等传播媒介的人群，如疫源地(主要为森林、丘陵地区)的居民、劳动者及旅游者等。该病全年均有发病，发病高峰为5~10月。不同国家的报道略有差异，多集中在当地蜱活动较为活跃的月份。该病分布与莱姆病的地区分布相似。流行区人群感染率15%~36%，发病率随年龄增加而上升，60~69岁年龄组的发病率最高，病死率约1%。嗜吞噬细胞无形体感染中性粒细胞并与其表面的岩藻糖基化和唾液酸化糖基化折叠蛋白结合，经淋巴管和血管播散，存在于单核－巨噬细胞系统的器官和组织中，诱发机体免疫应答，通过影响外周血中粒细胞的数量及功能导致免疫抑制，引起各种继发感染和免疫损伤，引起多器官功能受损，最终发展成多器官功能衰竭。该病大多数患者的死亡与免疫抑制和潜在疾病导致的机会感染有关。病理改变包括多脏器周围血管淋巴组织炎症浸润、坏死性肝炎、脾及淋巴结单核吞噬系统增生等，主要与免疫损伤有关。临床以发热伴白细胞、血小板减少和多脏器功能损害为主要特点，潜伏期1~2周，大多急性起病，持续高热，可达40℃以上。其临床表现主要为全身不适、乏力、头痛、肌肉酸痛以及恶心、呕吐、厌食、腹泻等，可伴有心、肝、肾等多脏器功能损害。常用间接免疫荧光试验(IFA)检测嗜吞噬细胞无形体IgM或IgG抗体进行微生物学诊断。急性期血清IgM抗体阳性或恢复期血清IgG抗体滴度较急性期有4倍或以上升高有诊断意义。全血或血细胞标本PCR检测嗜吞噬细胞无形体特异性核酸，并进行序列分析，证实与嗜吞噬细胞无形体的同源性达99%以上亦可诊断。必要时分离病原体。做好公众预防的指导和健康教育、避免蜱叮咬是降低感染风险的主要措施。控制媒介与宿主动物，出现暴发疫情时，应采取灭杀蜱、鼠和环境清理等措施。对病人的血液、分泌物、排泄物及被污染的环境和物品，应进行消毒处理。治疗以四环素类抗生素如多西霉素(doxycycline)为首选药物。

五、查菲埃立克体

查菲埃立克体(*E. chaffeensis*)是埃立克体属中引起人类感染的主要病原体之一，可引起人单核细胞埃立克体病(human monocytic ehrlichiosis，HME)。查菲埃立克体是一类重要的人兽共患病病原体，1990年首次从来自美国阿肯色州查菲堡的一个发热士兵的血液中分离出来而得名。近年来发现HME也存在于美国以外的地区，特别是欧洲和亚洲地区。我国新疆、内蒙古、福建等地均检测到该病原体的存在。查菲埃立克体的形态结构与嗜吞噬细胞无形体相似，为严格细胞内寄生的革兰染色阴性小细菌。但感染的靶细胞主要为单核细胞和巨噬细胞。查菲埃立克体在其吞噬小胞内增殖，聚集成堆，形成桑椹状的包涵体。HME是一种自然疫源性疾病。多种哺乳类动物为其储存宿主和传染源，包括鹿、鼠类、犬、马等。硬蜱是主要传播媒介。硬蜱叮咬为主要传播途径。病人都有蜱接触史或叮咬史。在热带、亚热带地区可全年发病，男性病例占70%。埃立克体的流行区亦与莱姆病的流行区相似。患者多于带菌蜱叮咬后1~2周发病，

笔记

临床表现无特异性，急性起病，高热、全身不适、乏力、头痛、肌肉酸痛，大部分伴恶心、呕吐、腹泻等消化道症状，少数伴有咳嗽、咽痛及呼吸窘迫综合征等。严重病例可伴心、肝、肾等多脏器功能损害，出现肺水肿、急性呼吸窘迫综合征，皮肤、肺、消化道等出血，以及继发细菌、病毒及真菌感染。少数患者可因呼吸衰竭、感染性休克、急性肾衰等多脏器功能衰竭以及弥漫性血管内凝血而死亡。在单核细胞内观察到典型“桑椹状”包涵体，或间接荧光抗体检测到相应抗原可确立诊断。也可检测患者血清中的抗体。在少数有条件的实验室，还可进行细胞培养和 PCR 检测。无特异性疫苗，一般预防同嗜吞噬细胞无形体。治疗可用多西霉素或利福霉素（rifamycin），二者对埃立克体均有杀灭作用。

（陈利玉）

笔记

第二十章　衣　原　体

衣原体(*Chlamydiae*)是一类严格真核细胞内寄生,具有独特发育周期,并能通过细菌滤器的原核细胞型微生物,归属于细菌范畴。

衣原体的共同特性:①有细胞壁,革兰阴性,呈圆形或椭圆形;②具有独特的发育周期,以二分裂方式繁殖;③有 DNA 和 RNA 两种核酸;④含有核糖体;⑤具有独立的酶系统,但不能产生代谢所需的能量,须利用宿主细胞的三磷酸盐和中间代谢产物作为能量来源,因而具有严格的细胞内寄生性;⑥对多种抗生素敏感。

目前,根据 16S rRNA 和 23S rRNA 进化树同源性分析,将衣原体分为独立的**门**(Phylum),衣原体门包含独立的**纲**(Class)和**目**(Order),将**衣原体目**(Chlamydiales)分为 8 个**科**(Family),12 个**属**(Genus),其中衣原体科分为**衣原体**、**嗜衣原体** 2 个属,**衣原体属**又分为**沙眼衣原体**(*Chlamydia trachomatis*)、**鼠衣原体**(*Chlamydia muridarum*)和**猪衣原体**(*Chlamydia suis*)3 个种;嗜衣原体属分为**肺炎嗜衣原体**(*Chlamydophila pneumoniae*)、**鹦鹉热嗜衣原体**(*Chlamydophila psittaci*)、**流产嗜衣原体**(*Chlamydophila abortus*)、**猫嗜衣原体**(*Chlamydophila felis*)、**兽类嗜衣原体**(*Chlamydophila pecorum*)和**豚鼠嗜衣原体**(*Chlamydophila caviae*)6 个种。对人致病的衣原体主要有 4 个种(表 20-1)。

表 20-1　四种衣原体不同生物学特性

性状	沙眼衣原体	肺炎嗜衣原体	鹦鹉热嗜衣原体	兽类嗜衣原体
自然宿主	人、小鼠	人	鸟类、低等哺乳动物	牛、羊
原体形态	圆形、椭圆形	梨形	圆形、椭圆形	圆形
基因组(bp)	1 044 459	1 230 230	1 169 374	1 106 197
G+C(%)	41~44.2	40	41.3	39.3
DNA 同源性(同种不同菌株间)	> 90%	> 90%	14%~95%	88%~100%
血清型	19	1	8	3
质粒	+	-(N16 株除外)	+	+
噬菌体	-	+	+	+
Pmp 基因	9	21	10	?

注:Pmp:polymorphic membrane proteins(多形态膜蛋白)

第一节　概　　述

一、生物学性状

1. 发育周期与形态染色　衣原体在宿主细胞内生长繁殖,具有独特的发育周期(图 20-1),可观察到两种不同的形态:一种是小而致密的颗粒结构,称为**原体**(elementary body,EB);另一种是大而疏松的结构,称为**网状体**(reticulate body,RB)。

原体呈球形、椭圆形或梨形,直径 0.2~0.4μm。普通光学显微镜下勉强可见,电镜下观察可见有细胞壁,中央有致密的类核结构,是发育成熟的衣原体。Giemsa 染色呈紫色,Macchiavello

笔记

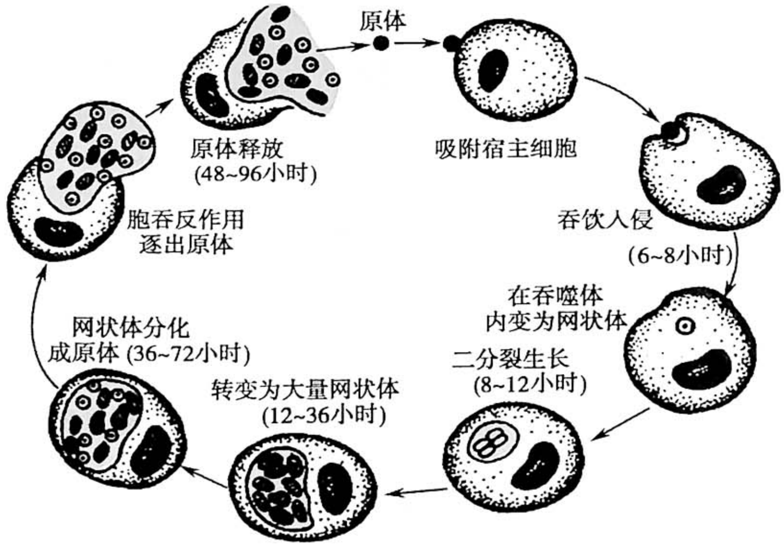


图 20-1 衣原体的发育周期

染色呈红色。原体具有**强感染性**，在宿主细胞外较为稳定，无繁殖能力。当进入宿主易感细胞后，宿主细胞膜围于原体外形成空泡（即包涵体），原体在空泡中逐渐发育，增殖成为网状体。

网状体，亦称**始体**（initial body），体积较大，直径 0.5~1.0μm，圆形或椭圆形。电子致密度较低，无胞壁，代谢活跃，以**二分裂**方式繁殖，在空泡内增殖成许多**子代原体**。成熟的子代原体从被破坏的感染细胞中释放，再感染新的易感细胞，开始新的发育周期。每个发育周期约 24~72 小时。网状体是衣原体发育周期中的**繁殖型**，不具感染性。Macchivello 染色呈蓝色。原体与网状体的性状比较（表 20-2）。

表 20-2 原体和网状体的性状比较

性状	原体	网状体	性状	原体	网状体
大小（直径 μm）	0.2~0.4	0.5~1.0	感染性	+	−
细胞壁	+	−	繁殖能力	−	+
代谢活性	−	++	RNA：DNA	1：1	3：1
胞外稳定性	+	−	细胞毒性	+	−

2. **培养特性** 衣原体为**专性细胞内寄生**，大多数衣原体能在 6~8 日龄鸡胚卵黄囊中繁殖，于感染后 3~6 天致鸡胚死亡，并可在鸡胚卵黄囊膜中找到**包涵体**（inclusion body）、原体和网状体颗粒。组织细胞培养时，可在 HeLa、McCoy 或 HL 等细胞中生长良好。但衣原体多缺乏主动穿入组织细胞的能力，故可将接种有标本的细胞培养管离心沉淀以促使衣原体穿入细胞，在细胞培养管中加入代谢抑制物如二乙氨基葡聚糖（DEAE-dextran）、细胞松弛素 B，或先用 X 线照射，使细胞处于非分裂状态，其目的在于使细胞生长代谢缓慢，有利于衣原体的寄生性生长或提高衣原体吸附细胞的能力，使它易穿入细胞进行繁殖。

3. **抗原结构** 根据细胞壁的成分不同，可将衣原体抗原分为属、种、型特异性抗原。①**属特异性抗原**：位于细胞壁的共同抗原为脂多糖，类似于革兰阴性菌的脂蛋白 - 脂多糖复合物，可用补体结合试验进行检测；②**种特异性抗原**：大多数衣原体的种特异性抗原位于**主要外膜蛋白**（major outer membrane protein，MOMP）上，可用补体结合试验和中和试验进行检测，可鉴别不同种衣原体。③**型特异性抗原**：根据 MOMP 可变区氨基酸序列的不同，可将每种衣原体分为不同的血清型或**生物型**（biovar），常用的检测方法是单克隆抗体微量免疫荧光试验。

4. **抵抗力** 衣原体耐冷不耐热，60℃仅能存活 5~10 分钟；在 -60℃感染性可保持 5 年，液

笔 记

氮内可保存10年以上，冷冻干燥保存30年以上仍可复苏。对常用消毒剂敏感，如用0.1%甲醛溶液24小时，2%氢氧化钠或1%盐酸2~3分钟，75%酒精溶液1分钟即可灭活。紫外线照射可迅速灭活。四环素、氯霉素、多西环素和红霉素等抗生素有抑制衣原体繁殖的作用。

二、致病性与免疫性

不同的衣原体由于MOMP等不同，其嗜组织性不同，致病性也不同。有些只引起人类疾病，例如沙眼衣原体中的沙眼生物型、生殖生物型、性病淋巴肉芽肿生物型和肺炎嗜衣原体；有些只引起动物疾病，例如鹦鹉热中的大多数菌株和兽类嗜衣原体；有些是人兽共患病原体，例如鹦鹉热嗜衣原体中的部分菌株。

1. 致病性 衣原体通过微小创面侵入机体后，通过**肝硫素**作为“桥梁”，原体吸附于易感的**柱状或杯状黏膜上皮细胞**，并进入细胞内生长繁殖。衣原体也可进入单核吞噬细胞，由吞噬细胞膜围绕原体内陷形成空泡，称**吞噬体**。原体在空泡中生长发育成为网状体，完成繁殖过程。细胞内溶酶体若能与吞噬体融合，溶酶体内的水解酶就可将衣原体杀灭。衣原体能产生**类似于革兰阴性菌内毒素**的毒性物质，该物质存在于衣原体的细胞壁中，不易与衣原体分开，能够抑制宿主细胞代谢，直接破坏宿主细胞。这种毒素的作用可被特异性抗体所中和。衣原体的致病机制除与宿主细胞对毒素反应有关外，还表现在衣原体的MOMP能**阻止吞噬体与溶酶体的融合**，从而有利于衣原体在吞噬体内繁殖并破坏宿主细胞。MOMP的表位容易发生变异，在体内可以逃避特异性抗体的中和作用而继续感染细胞。此外，衣原体**Ⅲ型分泌系统**（type Ⅲ secretion system，T3SS）是由多种蛋白质复合体组成的跨膜蛋白输出装置，主要通过分泌效应蛋白或把毒力蛋白直接注入到宿主细胞而发挥致病作用。另外，衣原体**热休克蛋白**（heat shock protein，HSP）能刺激机体巨噬细胞产生TNF-α、IL-1、Il-6等炎症性细胞因子，从而介导炎症发生和瘢痕形成，直接损害宿主细胞，引起相关病变。

2. 所致疾病 不同衣原体感染机体的部位不同，因而可引起不同类型的疾病（表20-3）

表20-3 人类致病性衣原体的感染部位与所致疾病

衣原体（血清型）	感染部位	所致疾病
沙眼衣原体（A，B，Ba，C）	眼	沙眼
沙眼衣原体（D~K）	眼	包涵体结膜炎
沙眼衣原体（D~K）	眼	新生儿眼炎
沙眼衣原体（D~K）	生殖道（男）	尿道炎，附睾炎，直肠炎
沙眼衣原体（D~K）	生殖道（女）	尿道炎，宫颈炎，直肠炎，输卵管炎，不育，肝周炎，阑尾周围炎
鹦鹉热嗜衣原体（羊株）	生殖道（女）	流产，死产
沙眼衣原体（L1~L3）	生殖道	性病淋巴肉芽肿
沙眼衣原体（D~K）	呼吸道	婴儿肺炎
肺炎嗜衣原体	呼吸道	咽炎，肺炎
鹦鹉热嗜衣原体（鸟株）	呼吸道	鹦鹉热
鹦鹉热嗜衣原体（羊株）	呼吸道	肺炎

3. 免疫性 衣原体感染后，能诱导机体产生特异性细胞免疫和体液免疫，以**细胞免疫**为主。MOMP活化Th细胞分泌细胞因子，抑制衣原体的繁殖；特异性中和抗体可抑制衣原体吸附到宿主细胞，参与抗衣原体感染的中和作用。但通常免疫力不强，且较为短暂，因而常造成反复感染、持续性感染或隐性感染。此外，也可能出现免疫病理损伤，主要由迟发型超敏反应引起，如**性病淋巴肉芽肿**等。

笔记

笔记

第二节 主要病原性衣原体

一、沙眼衣原体

根据侵袭力和引起人类疾病的部位不同，将沙眼衣原体分为三个生物型：即**沙眼生物型**（*biovar trachoma*）、**生殖生物型**（*biovar genital*）和**性病淋巴肉芽肿生物型**（*biovar lymphogranuloma venereum*，LGV）。

（一）生物学性状

原体为圆形或椭圆形，直径约 0.3μm，中央有致密核质，Giemsa 染色呈紫红色。网状体直径 0.5~1.0μm，核质分散，Giemsa 染色为深蓝或暗紫色。原体能合成糖原，掺入沙眼衣原体包涵体的基质中，故被碘溶液染成棕褐色。

根据三个生物型 MOMP **表位氨基酸序列的差异**，将沙眼衣原体分为 19 个血清型，其中沙眼生物型包括 A、B、Ba、C；生殖生物型包括 D、Da、E、F、G、H、I、Ia、J、Ja 和 K；LGV 生物型包括 L1、L2、L2a 和 L3。LGV 生物型的 4 个血清型均与沙眼生物型 E 型和 C 型有交叉抗原存在。

（二）致病性与免疫性

沙眼衣原体主要寄生于人类，无动物储存宿主，主要引起以下疾病：

1. 沙眼 由沙眼生物型 A、B、Ba 和 C 血清型引起。在流行区，主要通过**眼 - 眼或眼 - 手 - 眼传播**。沙眼衣原体感染眼结膜上皮细胞后，在其中繁殖并在细胞浆内形成包涵体，引起局部炎症。早期症状是流泪、有黏性或脓性分泌物、结膜充血及滤泡增生。晚期出现结膜瘢痕、眼睑内翻、倒睫等；也可引起角膜血管翳，导致角膜损害，影响视力或致盲。

2. 包涵体结膜炎 由沙眼生物型 B、Ba 和生殖生物型 D、Da、E、F、G、H、I、Ia、J、Ja 及 K 血清型引起。包括**婴儿结膜炎**及**成人结膜炎**两种，前者系婴儿经**产道感染**，引起**急性化脓性结膜炎（包涵体脓漏眼）**，不侵犯角膜，能自愈；后者可经两性接触、经手至眼或污染的游泳池水感染，引起**滤泡性结膜炎**，又称**游泳池结膜炎**。病变类似沙眼，但不出现**角膜血管翳**，亦无结膜瘢痕，一般经数周或数月痊愈，**无后遗症**。

3. 泌尿生殖道感染 经**性接触传播**，由生殖生物型 D~K 血清型引起。男性多表现为**非淋菌性尿道炎**，不经治疗可缓解，但多数会转变成慢性，周期性加重，并可合并附睾炎、前列腺炎、直肠炎等。女性表现为尿道炎、宫颈炎、输卵管炎与盆腔炎等。若输卵管炎反复发作，可导致不孕或宫外孕等严重并发症。

4. 婴幼儿肺炎 生殖生物型 D~K 血清型均可引起婴幼儿肺炎。

5. 性病淋巴肉芽肿 由沙眼衣原体 LGV 生物型 L1、L2、L2a 及 L3 引起。人是 LGV 的自然宿主。主要通过**性接触传播**。衣原体侵犯男性**腹股沟淋巴结**，引起化脓性淋巴结炎和慢性淋巴肉芽肿，常形成瘘管；亦可侵犯女性会阴、肛门、直肠，引起会阴 - 肛门 - 直肠组织狭窄。LGV 也可引起结膜炎并伴有耳前、颌下及颈部淋巴结肿大。

沙眼衣原体为细胞内寄生的病原体，以**细胞免疫**为主。主要由 MOMP 活化的 $CD4^+$ T 细胞释放细胞因子**激活单核巨噬细胞**，从而破坏和清除感染或未感染的黏膜细胞产生病理性损害，并易引起继发性感染。特异性中和抗体可与衣原体结合，阻断衣原体与宿主细胞膜上的受体结合，使其不能进入宿主细胞内进行增殖。由于沙眼衣原体型别多，MOMP 易发生变异，病后建立的**免疫力不持久**，仍有再度感染的可能性。

（三）微生物学检查法

多数衣原体引起的疾病可根据临床症状和体征确诊。如急性期沙眼或包涵体结膜炎患者，以临床诊断为主，实验室检查可取**眼结膜刮片**或眼穹隆部及眼结膜分泌物涂片镜检。对泌尿生

殖道感染者，由于临床症状不一定典型，因而实验室检查非常重要，可采用**泌尿生殖道拭子或宫颈刮片**，少数取精液或其他病灶部位活检标本，亦可用初段尿离心后涂片。LGV 患者采集**淋巴结脓肿**、脓液、生殖器溃疡或直肠组织标本。标本最好用膜式滤菌器除去杂菌，不加抗生素。若要作细胞培养，应注意标本的保存并及时接种到培养细胞中。衣原体标本的运送常用含抗生素的**二磷酸蔗糖（2SP）运送培养基**。若标本在 2 小时之内接种，阳性检出率最高。

1. 直接涂片镜检 沙眼急性期患者取结膜刮片，Giemsa 或碘液及荧光抗体染色镜检，观察上皮细胞浆内有无**包涵体**。对包涵体结膜炎及性病淋巴肉芽肿患者，可从病损局部取材涂片，染色镜检，观察有无衣原体或包涵体（图 20-2）。



图 20-2 沙眼衣原体包涵体
（结膜图片 ×650）

2. 分离培养 取感染组织的渗出液或刮取物，接种于鸡胚卵黄囊或传代细胞，35℃培养 48~72 小时。再用 IFA 或 ELISA 检测培养物中的衣原体。

3. 衣原体抗原与核酸组分检测 临床诊断目前倾向于抗原与核酸组分检测。方法有：①应用单克隆抗体通过 ELISA 从临床标本中检测沙眼衣原体 LPS 和 MOMP 抗原；②以特异性引物通过 PCR 和链接酶链反应（LCR）等扩增技术检测沙眼衣原体 DNA。抗原与核酸组分检测是沙眼衣原体的快速诊断方法，具有快速、敏感、特异等优点。

（四）防治原则

沙眼衣原体的预防重点是注意个人卫生，避免直接或间接的接触传染。泌尿生殖道衣原体感染的预防应广泛开展性传播疾病防治知识的宣传，积极治愈病人和带菌者。对高危人群开展普查和监控，防止感染的扩散。治疗药物可选用多西环素、罗红霉素、阿奇霉素、加替沙星等。

目前尚无有效的沙眼衣原体疫苗，MOMP 是其主要候选疫苗抗原。由于 MOMP 的多型性，其疫苗不易对所有型别的沙眼衣原体都产生保护性，故增加了 MOMP 作为疫苗的难度。

二、肺炎嗜衣原体

肺炎嗜衣原体是衣原体属的一个新种。最初分离的两株病原体：1965 年自我国台湾一名小学生眼结膜中分离到的 TW-183（Taiwan-183）株和 1983 年自美国西雅图一位急性呼吸道感染病人的咽部分离出另一株 AR-39（acute respiratory-39），后发现这两株衣原体为同一菌株，仍命名为 TWAR。

（一）生物学特性

原体直径为 0.38μm，呈**梨形**，并有清晰的周浆间隙，在胞浆中还有数个电子致密的圆形小体存在。而网状体的特征与沙眼衣原体和鹦鹉热嗜衣原体类似。Giemsa 染色呈紫红色，该法对细胞内包涵体的定位比碘染法敏感。

肺炎嗜衣原体是较难培养的一种微生物。最早用于其体外培养的是 McCoy 和 HeLa 细胞，但都很难用于连续传代。目前常用 HEp-2 和 HL 细胞系，其在培养肺炎嗜衣原体的敏感性方面要高于前两者。

依据 16S rRNA，23S rRNA，ompA 基因序列将肺炎嗜衣原体分为三个生物型：即人生物型、考拉生物型和马生物型。根据 ompA VD4 区基因序列分析提示肺炎嗜衣原体可能存在不同的基因型。

肺炎嗜衣原体与其他衣原体的DNA同源性小于10%，而不同来源的肺炎嗜衣原体株具有94%以上的DNA同源性，其限制性内切酶图谱相同。

肺炎嗜衣原体抗原主要有两种，即**脂多糖（LPS）抗原和蛋白质抗原**。LPS为衣原体属特异性抗原，它不仅含有衣原体属特异性抗原决定簇，也含有与其他微生物LPS发生交叉反应的抗原表位。蛋白质抗原主要是MOMP，它是衣原体外膜复合物（omC）上的主要成分，暴露于表面并具有较强的免疫原性，在肺炎嗜衣原体的诊断和疫苗制备等研究工作中有潜在的应用价值。

（二）致病性与免疫性

肺炎嗜衣原体人生物型寄生于人类，在人与人之间经**飞沫**或**呼吸道分泌物**传播。扩散较为缓慢，具有散发和流行交替出现的特点。约有50%的成人受到过肺炎嗜衣原体感染，大部分为亚临床型。

肺炎嗜衣原体是**呼吸道疾病**的重要病原体，易引起肺炎、支气管炎、咽炎和鼻窦炎等。起病缓慢，临床症状与肺炎支原体相似，表现为咽痛、咳嗽、咳痰、发热等，一般症状较轻。大约4.5%~25%肺炎嗜衣原体感染的病人出现严重的哮喘症状。病原体存在的持续性及隐蔽性可造成机体组织的慢性病理损伤。流行病学调查证实，肺炎嗜衣原体与**冠心病**、**动脉粥样硬化**等慢性病的发生密切相关。

机体感染肺炎嗜衣原体后**以细胞免疫为主**，体液免疫为辅，但**免疫力不持久**，可重复感染。

（三）微生物学检查法

1. 病原学检查 常采用痰标本、鼻咽拭子及支气管肺泡灌洗液。先直接涂片，观察**包涵体**；再以荧光或酶标记的种特异性单克隆抗体直接检测标本中肺炎嗜衣原体抗原。此方法特异性高，与其他衣原体无交叉反应，但缺点是易受多种因素干扰，敏感性不高。如必要可采用组织培养或动物接种进行**病原体分离**，再通过Giemsa或Macchiavello染色观察原体或网状体。

2. 血清学方法 **微量免疫荧光试验**（MIF）是目前检测肺炎嗜衣原体感染最常用且较敏感的血清学方法，被称为“金标准”。该试验可分别测定血清中的IgM和IgG抗体，有助于区别近期感染和既往感染，也有利于区别原发感染和继发感染。凡双份血清抗体滴度增高4倍或以上，或单份血清IgM抗体滴度≥1：16，或IgG抗体滴度≥1：512，可确定为急性感染，IgG≥1：16表示为既往感染。

3. PCR检测特异性核酸 根据肺炎嗜衣原体的16S rRNA基因或MOMP基因保守序列计特异性引物，采用PCR技术检测特异性核酸片段，可用于临床标本的快速诊断。

三、鹦鹉热嗜衣原体

鹦鹉热是由**鹦鹉热嗜衣原体**引起的一种**自然疫源性疾病**。本菌主要在鸟类及家禽中传播，广泛分布于世界各地，我国于20世纪60年代初证实有本病流行。一般呈散发型，偶有小范围的暴发或流行。

（一）生物学性状

原体直径为0.2~0.5μm，呈球形或卵圆形。网状体直径为0.6~1.5μm，呈球形或不规则形态。原体在细胞空泡中增殖，形成结构疏松、不含糖原、**碘染色呈阴性的包涵体**。

依据血清学分类法，鹦鹉热嗜衣原体至少可以分为8个血清型，分别为A、B、C、D、E、F、WC和M56型。每个血清型感染均表现出一定的宿主特异性。

鹦鹉热嗜衣原体在6~8日龄鸡胚卵黄囊中生长良好。在HeLa细胞、McCoy细胞、猴肾细胞（BSC-1）及HL细胞中均可生长。易感动物为小鼠。

（二）致病性与免疫性

人类主要经**呼吸道吸入**病鸟粪便、分泌物或羽毛的气雾或尘埃而感染，也可经**破损皮肤**、**黏膜或眼结膜**感染。本病潜伏期为5~21天（最短3天，最长可达45天）。临床表现多为**非典型性**

笔记

肺炎，以发热、头痛、干咳、间质性肺炎为主要症状，并可并发心肌炎。白细胞计数正常或略有增多。约有 50% ~95% 患者胸片显示为片状、云絮状、结节状或粟粒状阴影，由肺门部向外呈楔形或扇形扩大，亦可表现为大叶性肺炎。

机体感染鹦鹉热嗜衣原体后以**细胞免疫为主**。另外，MOMP 还能刺激机体产生特异性中和抗体，抑制衣原体在体内的增殖。同时，它可诱生和激活 $CD4^+$ T 与 $CD8^+$ T 淋巴细胞，对清除细胞内衣原体和抵抗再次感染具有重要作用。

（三）微生物学检查法

病原学检查是确诊的重要方法。取患者血、痰标本或咽拭子直接涂片染色观察包涵体。如必要可先采用组织培养或动物接种进行**病原体分离**，再通过 Giemsa 或 Macchiavello 染色观察**原体或网状体**。

血清学诊断可采用重组**鹦鹉热嗜衣原体抗原**进行 IFA 或 ELISA 法检测特异 IgM 抗体作为早期、特异诊断。也可根据 16S rRNA 或 MOMP 基因设计特异引物，采用 PCR 做快速诊断。

（四）防治原则

严格控制传染源，对饲养的鸟类与禽类加强管理，避免鹦鹉热嗜衣原体的传播和流行。从事禽类加工和运输的人员应注意加强防护，对进口的鸟类和禽类应加强检疫。鹦鹉热确诊后，宜及早使用四环素类、大环内酯类或喹诺酮类抗生素彻底治疗。

（吴移谋）

笔记

第二十一章　螺　旋　体

螺旋体(Spirochete)是一类细长、柔软、弯曲成螺旋状、运动活泼的原核细胞型微生物，生物学地位介于细菌与原虫之间。由于螺旋体的基本结构及生物学性状与细菌相似，如有原始核质和类似革兰阴性菌的细胞壁、二分裂方式繁殖及对多种抗生素敏感等，故生物分类学上将螺旋体列入广义的细菌学范畴。

螺旋体在自然界和动物体内广泛存在，种类繁多，其中部分螺旋体可引起人类疾病（表21-1）。分类的主要依据是其大小、螺旋数目、螺旋规则程度和螺旋间距。对人致病的螺旋体主要分布在如下三个属：钩端螺旋体属、密螺旋体属和疏螺旋体属。

钩端螺旋体属(*Leptospira*)：螺旋细密规则，一端或两端弯曲成钩状，故名钩端螺旋体，其中问号钩端螺旋体(*L. interrogans*)等致病性钩端螺旋体对人和动物致病。

密螺旋体属(*Treponema*)：螺旋较为细密规则，两端尖细，其中苍白密螺旋体苍白亚种、苍白密螺旋体地方亚种、苍白密螺旋体极细亚种和品他螺旋体对人致病。

疏螺旋体属(*Borrelia*)：有3~10个稀疏不规则的螺旋，呈波纹状，其中伯道疏螺旋体、回归热螺旋体、赫姆疏螺旋体和奋森疏螺旋体对人致病。

表21-1　螺旋体目的分类及致病性螺旋体种类

科	属	致病性种类	所致疾病	传播方式或媒介
螺旋体科	螺旋体			
	蛇形螺旋体			
	脊螺旋体			
	密螺旋体	苍白密螺旋体苍白亚种	梅毒	性传播
		苍白密螺旋体地方亚种	地方性梅毒	黏膜损伤
		苍白密螺旋体极细亚种	雅司病	皮肤损伤
		品他螺旋体	品他病	皮肤损伤
	疏螺旋体	伯道疏螺旋体	莱姆病	硬蜱
		回归热螺旋体	流行性回归热	体虱
		赫姆疏螺旋体	地方性回归热	软蜱
		奋森疏螺旋体	多种口腔感染	条件致病
钩端螺旋体科	钩端螺旋体	问号钩端螺旋体	钩端螺旋体病	接触疫水

第一节　钩端螺旋体属

钩端螺旋体隶属于螺旋体目(Spirochaetales)钩端螺旋体科(Leptospiraceae)钩端螺旋体属(*Leptospira*)。钩端螺旋体属可分为以问号**钩端螺旋体**(*L.interrogans*)为代表的致病性钩端螺旋体及以双曲钩端螺旋体(*L.biflexa*)为代表的非致病性钩端螺旋体两大类。钩端螺旋体病是全球性分布的人兽共患病，我国除新疆、西藏、青海、宁夏和甘肃尚未肯定有钩端螺旋体病流行外，其余地区均有钩端螺旋体病的流行，因而该病是目前我国重点防控的13种传染病之一。

笔记

一、生物学性状

1. 形态与染色 菌体纤细，长 6~12μm，宽 0.1~0.2μm，菌体一端或两端弯曲使菌体呈问号状，C、S 或 8 字形。钩端螺旋体基本结构由外至内分别为外膜、内鞭毛（endoflagellum）、细胞壁肽聚糖及细胞膜（内膜）包绕的柱形原生质体（cytoplasmic cylinder）。内鞭毛由 6 种不同蛋白聚合而成，分别由菌体两端各伸出一根内鞭毛，位于外膜与肽聚糖层之间，紧缠于柱形原生质体表面，使钩端螺旋体呈现为特征性的沿菌体长轴旋转运动。革兰染色阴性，但不易着色。Fontana 镀银染色效果较好，菌体被染成金黄色或棕褐色（图 21-1A）；因菌体的折光性较强，故常用暗视野显微镜观察（图 21-1B）。

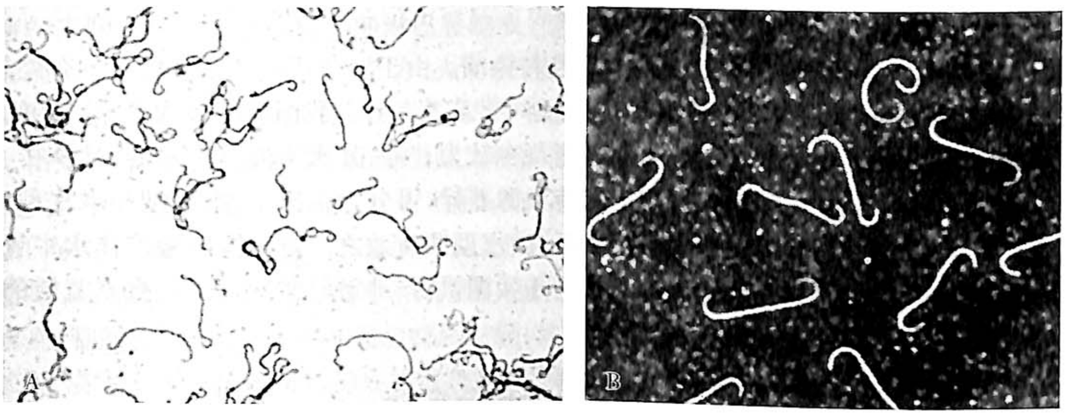


图 21-1 感染动物尿液（A）及培养基中（B）的钩端螺旋体
A：镀银染色（光学显微镜，×1000）；B：悬滴标本（暗视野显微镜，×2000）

2. 培养特性 需氧或微需氧。营养要求较高，常用培养基为含 10% 兔血清的 Korthof 培养基，也可用无血清的 EMJH 培养基培养，最适生长温度为 28~30℃，最适 pH 为 7.2~7.4。生长缓慢，在液体培养基中分裂一次约需 8 小时，28℃培养 1 周后呈半透明云雾状，但菌数仅为普通细菌的 1/10~1/100。在固体培养基上，28℃培养 2 周后可形成半透明、不规则、直径 1~2mm 的扁平菌落。

3. 抗原构造和分类 钩端螺旋体主要有属特异性蛋白抗原、群特异性抗原和型特异性抗原。属特异性抗原可能是糖蛋白或脂蛋白，群特异性抗原为脂多糖复合物，型特异性抗原为菌体表面的多糖与蛋白复合物。应用显微镜凝集试验（microscopic agglutination test，MAT）和凝集吸收试验（agglutination absorption test，AAT），可将钩端螺旋体属进行血清群及血清型的分类。目前国际上将致病性钩端螺旋体至少分为 25 个血清群、273 个血清型，其中我国至少存在 19 个血清群、75 个血清型。近年来，国际上开始采用基因种分类，其中致病性钩端螺旋体分为 *L.interrogans*，*L. borgpetersenii*，*L. kirschneri*，*L.noguchii*，*L. weilii*，*L. santarosai* 和 *L. meyeri* 七个基因种。血清学分类和基因种分类之间有一定差异，目前临床上仍然采用血清学分类法。

4. 基因组及其特点 至今公布了三株钩端螺旋体全基因组序列。我国科学家率先完成了问号钩端螺旋体黄疸出血群赖型赖株全基因组测序和注释工作，研究结果发表于 2003 年国际著名学术期刊 *Nature* 上。与绝大多数原核细胞型微生物不同，问号钩端螺旋体赖株有大（4 332 241bp）、小（358 943bp）两条环状染色体，其基因组可编码不少与真核细胞微生物或原虫相似的蛋白，表明钩端螺旋体介于细菌与原虫之间的生物学分类地位有其遗传学基础。无典型外毒素编码基因，但 LPS 合成与装配系统完善，溶血素、鞭毛、二元信号传导系统、Ⅱ型和Ⅲ型分泌系统相关基因众多。缺乏己糖磷酸激酶基因，故不能利用糖作为碳源。

笔记

5. 抵抗力 抵抗力弱，60℃ 1分钟即死亡，0.2% 甲酚皂、1% 苯酚、1% 漂白粉处理 10~30 分钟即被杀灭。对青霉素敏感。钩端螺旋体在酸碱度中性的湿土或水中可存活数月，这在疾病传播上有重要意义。

二、流行环节

钩端螺旋体病是一种典型的**人兽共患病**(zoonosis)。全世界至少发现约 200 余种动物可携带致病性钩端螺旋体，我国已从 50 余种动物中检出致病性钩端螺旋体，其中以黑线姬鼠及猪、牛为主要储存宿主。动物感染钩端螺旋体后，大多呈隐性或轻症感染，少数家畜感染后可引起流产。钩端螺旋体在感染动物中长期生存并持续从尿液中排出，直接或经土壤间接污染水源形成自然疫源地，人类接触污染的水源而被感染。钩端螺旋体病主要在夏秋季节流行，雨季造成内涝水淹或山洪暴发时可引起暴发流行。

钩端螺旋体病也是一种典型的自然疫源性传染病。由于地理环境和宿主动物分布差异，不同国家或地区优势流行的钩端螺旋体血清群、型可有显著差异。我国流行最为广泛的钩端螺旋体血清群为黄疸出血群，北方地区波摩那群流行也较为普遍，其次为流感伤寒群、秋季群、澳洲群、七日热群和赛罗群等。根据流行特征和传染源差异，可分为稻田型、雨水型和洪水型，稻田型主要传染源为野生鼠类，雨水型主要是家畜，洪水型两者兼之。**由于钩端螺旋体水中长期存活及其疾病自然疫源性的特点，钩端螺旋体病是我国洪涝、地震等自然灾害中重点监控的四种传染病之一**。

三、致病性和免疫性

1. 致病物质 至今未发现钩端螺旋体能产生任何典型的细菌外毒素。目前倾向于内毒素是钩端螺旋体主要致病物质。近年发现，黏附素和溶血素也可能在钩端螺旋体致病过程中发挥重要作用。

(1) 黏附素：致病性钩端螺旋体能以菌体一端或两端黏附于细胞(图 21-2)，已肯定的黏附素有外膜中的 24kDa 和 36kDa 蛋白以及钩端螺旋体免疫球蛋白样蛋白(leptospiral immunoglobulin-like protein，Lig)，24kDa 外膜蛋白的受体为细胞胞外基质(extracellular matrix，ECM)中的层粘连蛋白(laminin，LN)，36kDa 外膜蛋白和 Lig 蛋白受体为 ECM 中的纤维连接蛋白(fibronectin，FN)。

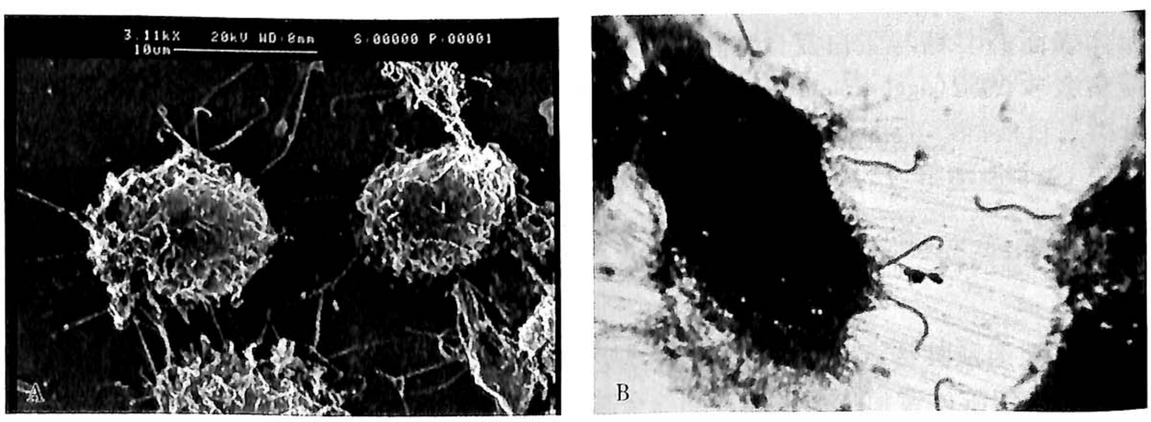


图 21-2 黏附巨噬细胞(A)和 Vero 细胞(B)的钩端螺旋体
A：扫描电镜(×2000)；B：Fontana 镀银染色后光学显微镜检查(×1000)

(2) 内毒素：重症钩端螺旋体病患者和实验感染动物可出现与革兰阴性菌内毒素反应相似的临床症状和病理变化，提示内毒素是钩端螺旋体主要致病物质。钩端螺旋体内毒素中脂质 A

笔记

结构与典型的细菌内毒素有所差异，故毒性较弱。

(3) 溶血素：不少致病性钩端螺旋体血清群能产生溶血素，可体外溶解人、牛、羊和豚鼠红细胞，注入体内能引起贫血、出血、肝肿大、黄疸和血尿。问号钩端螺旋体黄疸出血群赖株基因组中，至少存在 9 个溶血素编码基因，其中 Sph2 及 SphH 溶血素对多种哺乳类细胞有毒性。最近发现，多种问号钩端螺旋体赖株溶血素有很强的诱导单核－巨噬细胞产生 TNF-α、IL-1β、IL-6 等炎性细胞因子的能力。

(4) 胶原酶：问号钩端螺旋体黄疸出血群赖株胶原酶能水解Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ型胶原，胶原酶编码基因被敲除后，其侵袭力和毒力均显著下降。

2. 所致疾病　人感染钩端螺旋体后均引起**钩端螺旋体病**(leptospirosis)，病人主要是农民、渔民、屠宰工人以及一些临时进入疫区工作或旅行的人群。致病性钩端螺旋体能迅速通过破损或完整的皮肤、黏膜侵入人体，并经淋巴系统或直接进入血流引起钩端螺旋体血症，患者出现中毒性败血症症状和体征，如发热、乏力、头痛、肌痛、眼结膜充血、浅表淋巴结肿大等。继而钩端螺旋体随血流侵入肝、脾、肾、肺、心、淋巴结和中枢神经系统等，引起相关脏器和组织的损害和体征。由于感染的钩端螺旋体血清型、毒力和数量不同以及宿主免疫力差异，感染者临床表现差异很大。轻症者似流感，重症者可有明显的肺、肝、肾以及中枢神经系统损害，出现肺出血、黄疸、DIC、休克，甚至死亡。临床上根据病人受损的主要脏器不同，分为肺出血型、流感伤寒型、黄疸出血型、低血压休克型、肾衰竭型等病型。部分病人退热后或恢复期中，可发生眼血管膜炎、视网膜炎、脑膜炎、脑动脉炎等并发症或后发症，其发病机制与超敏反应有关。

3. 免疫性　主要依赖于特异性体液免疫。发病后 1~2 周，机体可产生特异性抗体。特异性抗体有阻断黏附、调理单核－巨噬细胞吞噬、在补体参与下溶解钩端螺旋体的作用，从而防止再感染和清除体内的钩端螺旋体。特异性抗体似乎对肾脏中的钩端螺旋体无明显作用，故部分钩端螺旋体病患者恢复期 1~2 周、尤其是感染动物尿中可长期甚至终身带菌并排菌，其机制未明。感染后机体可获得对同一血清型钩端螺旋体的持久免疫力，但不同血清群之间无明显的交叉保护作用。单核－巨噬细胞能吞噬并杀灭钩端螺旋体，中性粒细胞则否，但仅有抗感染作用。

四、微生物学检查

1. 标本采集　病原学检查时，于发病 7~10 天取外周血，两周后取尿液。有脑膜刺激症状者取脑脊液。血清学检查时，可采取单份血清，但最好采集发病 1 周及 3~4 周双份血清。

2. 病原学检查　常用暗视野显微镜检查法和镀银染色后普通光学显微镜检查法。

(1) 直接镜检：将标本差速离心集菌后作暗视野显微镜检查，或 Fontana 镀银染色后镜检，也可用免疫荧光法或免疫酶染色法检查。

(2) 分离培养与鉴定：将标本接种至 Korthof 或 EMJH 培养基中，28℃培养 2 周，用暗视野显微镜检查有无钩端螺旋体生长。培养阳性者可进一步用显微镜凝集试验(MAT)和凝集吸收试验(AAT)进行血清群、型的鉴定。

(3) 动物试验：适用于有杂菌污染的标本。将标本接种于幼龄豚鼠或金地鼠腹腔，一周后取心血镜检并作分离培养及鉴定。若动物发病后死亡，解剖后可见皮下、肺部等处有出血点或出血斑，肝、脾、肾组织染色后镜检可见大量钩端螺旋体。

(4) 分子生物学检测方法：常用 PCR 检测标本中钩端螺旋体 16S rDNA 基因片段，该法虽简便、快速、敏感，但不能获得菌株。限制性核酸内切酶指纹图谱可用于钩端螺旋体鉴定、分型、变异等研究，脉冲场凝胶电泳聚类分析可用于流行病学调查。

3. 血清学诊断　以 MAT 最为经典和常用。

(1) MAT：用我国 15 群 15 型致病性钩端螺旋体参考标准株结合当地常见的血清群、型的活钩端螺旋体作为抗原，与不同稀释度的疑似钩端螺旋体病患者血清混合后 37℃孵育 1~2 小时，

笔记

在暗视野显微镜下检查有无凝集现象。若血清中存在同型抗体，可见钩端螺旋体被凝集成不规则的团块或蜘蛛状。以50%钩端螺旋体被凝集的最高血清稀释度作为效价判断终点。单份血清标本的凝集效价1：300以上或双份血清标本凝集效价升高4倍以上有诊断意义。本试验特异性和敏感性均较高，但操作烦琐，不适于基层医疗单位采用，通常也不用于早期诊断。

(2) TR/patoc Ⅰ属特异性抗原凝集试验：双曲钩端螺旋体Patoc Ⅰ株经80℃加热10分钟后可作为属特异性抗原，能与所有感染不同血清群、型致病性钩端螺旋体的病人血清中抗体发生凝集反应，常用的方法为玻片凝集试验(slide agglutination test，SAT)。由于所检测的抗体主要是IgM，故本法可用于早期诊断。

(3) 间接凝集试验：将钩端螺旋体可溶性属特异性抗原吸附于乳胶或活性炭微粒等载体上，然后检测血清标本中有无相应凝集抗体。单份血清标本乳胶凝集效价大于1：2、炭粒凝集效价大于1：8时可判为阳性，双份血清标本凝集效价呈4倍以上增长则更有诊断价值。

STA和间接凝集试验所用诊断抗原为属特异性，不能区分感染钩端螺旋体是否为致病的群和型，但操作简便快速，常在基层单位用于钩端螺旋体病的筛查。

五、防 治 原 则

做好防鼠、灭鼠工作，加强对带菌家畜的管理，保护水源。疫区人群接种钩端螺旋体多价疫苗是预防和控制钩端螺旋体病流行的主要措施。夏季和早秋是钩端螺旋体病流行季节，应尽量避免或减少与疫水接触，接触疫水人群可口服强力霉素进行紧急预防。钩端螺旋体疫苗有多价全菌死疫苗和多价外膜疫苗，前者虽有免疫保护作用，但副作用很大，后者由我国学者首创，其免疫效果好、不良反应小。

钩端螺旋体病的治疗首选青霉素，至今尚未发现钩端螺旋体对青霉素有耐药性，青霉素过敏者可选用庆大霉素或多西环素。部分病人注射青霉素后出现寒战高热及低血压，有的甚至出现抽搐、休克、呼吸和心跳暂停，称之赫氏反应。赫氏反应可能与钩端螺旋体被青霉素杀灭后所释放的大量毒性物质及可溶性抗原有关。

第二节 密螺旋体属

密螺旋体属(*Treponema*)螺旋体分为致病性和非致病性两大类。致病性密螺旋体主要有苍白密螺旋体(*T. pallidum*)和品他密螺旋体(*T. carateum*)两个种。苍白密螺旋体又分为3个亚种：苍白亚种(*subsp. pallidum*)、地方亚种(*subsp. endemicum*)和极细亚种(*subsp. pertenue*)，分别引起梅毒、非性传播梅毒(又称地方性梅毒)和雅司病。

一、苍白密螺旋体苍白亚种

苍白密螺旋体苍白亚种俗称梅毒螺旋体，是人类梅毒病原体。梅毒(syphilis)是对人类危害较严重的性传播疾病(sexual transmitted disease，STD)。

(一) 生物学性状

1. 形态与染色 长6~15μm，宽约0.1~0.2μm，有8~14个致密而规则的螺旋，两端尖直，运动活泼。梅毒螺旋体基本结构由外至内分别为外膜、3~4根内鞭毛、细胞壁肽聚糖及细胞膜包绕的原生质体。内鞭毛能使梅毒螺旋体进行移行、屈伸、滚动等方式运动。革兰染色阴性，但不易着色，用Fontana镀银染色法染成棕褐色(图21-3A)，常用暗视野显微镜直接观察悬滴标本中的梅毒螺旋体(图21-3B)。

2. 培养特性 不能在无生命的人工培养基上生长繁殖。Nichols有毒株对人和家兔有致病性，接种家兔睾丸或眼前房能保持毒力且缓慢繁殖，常用于传代保种。若将其转种至含多种氨

笔记



图 21-3 兔睾丸组织(A)及细胞培养基中(B)的梅毒螺旋体
A:镀银染色(光学显微镜,×1000);B:悬滴标本(暗视野显微镜,×1000)

基酸的兔睾丸组织碎片中,能在厌氧条件下生长繁殖,但失去致病力,此种菌株称为 Reiter 株。Nichols 株和 Reiter 株已广泛用作多种梅毒血清学的诊断抗原。采用棉尾兔(cotton tail rabbit)单层上皮细胞,在微需氧条件下(1.5% O_2、5% CO_2、93.5% N_2)33℃培养的梅毒螺旋体可生长繁殖并保持毒力。

3. 抗原构造 梅毒螺旋体外膜蛋白稀少,但在内膜和肽聚糖间存在丰富的脂蛋白,主要有 TpN47、TpN15、TpN17 和 TmpA,它们均具有强免疫原性和较高特异性,其重组抗原作为目前梅毒血清学的主要诊断抗原。鞭毛蛋白主要由 TpN33、TpN35 核心蛋白亚单位和 TpN37 鞘膜蛋白亚单位组成的聚合结构,其中 TpN37 含量高且抗原性强,鞭毛蛋白与其他螺旋体有交叉成分。

4. 基因组 梅毒螺旋体 Nichols 株染色体基因组为一个 1 138 006bp 的环状 DNA。与钩端螺旋体不同,梅毒螺旋体缺乏脂多糖和Ⅲ型分泌系统编码基因,也缺乏细胞毒素编码基因,但有一个密螺旋体特异的、由 12 个基因(Tpr A~L)组成的 Tpr 基因家族,可能与其致病相关。

5. 抵抗力 极弱,对温度和干燥特别敏感。离体后干燥 1~2 小时或 50℃加热 5 分钟即死亡。血液中的梅毒螺旋体 4℃放置 3 天可死亡,故血库 4℃冰箱储存 3 天以上的血液通常无传染梅毒的风险。对化学消毒剂敏感,1%~2% 苯酚溶液处理数分钟即死亡。对青霉素仍然十分敏感,但对大环类酯类抗生素如红霉素、阿奇霉素耐药已较普遍。

(二)致病性和免疫性

1. 致病物质 梅毒螺旋体有很强侵袭力,但尚未证明具有内毒素和外毒素。

(1)荚膜样物质:为菌体表面的黏多糖和唾液酸,可阻止抗体等大分子物质与菌体结合、抑制补体激活以及补体溶菌作用、干扰单核 - 巨噬细胞吞噬作用,从而有利于梅毒螺旋体在宿主内存活和扩散。梅毒患者常出现的免疫抑制现象也被认为与荚膜样物质有关。

(2)黏附因子:一些梅毒螺旋体外膜蛋白(如 Tp0751、Tp0155、Tp0483 蛋白)是黏附因子,其受体主要是靶细胞胞外基质(ECM)中的纤维连接蛋白(FN)和(或)层粘连蛋白(LN)。

(3)透明质酸酶:能分解组织、细胞基质、血管基底膜中的透明质酸,有利于梅毒螺旋体的侵袭和播散。

病理性体液和细胞免疫反应参与了梅毒螺旋体致病过程,如Ⅱ期梅毒患者血液中常出现梅毒螺旋体相关的免疫复合物、Ⅲ期梅毒患者出现树胶肿等。

2. 所致疾病 梅毒螺旋体只感染人类引起梅毒,梅毒患者是唯一的传染源。梅毒一般分为后天性(获得性)和先天性两种,前者通过性接触传染,称为性病梅毒,后者从母体通过胎盘传染给胎儿,称为胎传梅毒。输入梅毒螺旋体污染的血液或血制品,可引起输血后梅毒。

获得性梅毒临床上可分为三期,表现为发作、潜伏和再发作交替的现象。

笔记

(1) Ⅰ期梅毒：梅毒螺旋体经皮肤黏膜感染后2~10周，局部出现无痛性硬下疳（hard chancre），多见于外生殖器，也可见于肛门、直肠和口腔，其溃疡渗出液中有大量梅毒螺旋体，传染性极强。此期持续1~2个月，硬下疳常可自愈。进入血液中的梅毒螺旋体潜伏于体内，经2~3个月无症状的潜伏期后进入第Ⅱ期。

(2) Ⅱ期梅毒：全身皮肤及黏膜出现梅毒疹（syphilid），主要见于躯干以及四肢。全身淋巴结肿大，有时亦累及骨、关节、眼及中枢神经系统。在梅毒疹和淋巴结中有大量梅毒螺旋体。部分患者梅毒疹可反复出现数次。Ⅱ期梅毒患者未经治疗，3周~3个月后上述体征也可消退，其中多数患者发展成Ⅲ期梅毒。从出现硬性下疳至梅毒疹消失后1年的Ⅰ、Ⅱ期梅毒，又称为早期梅毒，传染性强，但组织破坏性较小。

(3) Ⅲ期梅毒：亦称晚期梅毒，多发生于初次感染2年后，也可见潜伏期长达10~15年的病人。此期病变波及全身组织和器官，呈现为慢性炎性损伤，常见病变为慢性肉芽肿，局部组织可因动脉内膜炎所引起的缺血而坏死，以神经梅毒和心血管梅毒最为常见，皮肤、肝、脾和骨骼可被累及，导致出现动脉瘤、脊髓痨或全身麻痹等。此期病灶内梅毒螺旋体少、传染性小，但破坏性大、病程长，疾病损害呈进展和消退交替出现，可危及生命。

先天性梅毒是梅毒孕妇体内的梅毒螺旋体通过胎盘而引起的胎儿全身感染，可导致流产、早产或死胎，新生儿可有皮肤病变、马鞍鼻、锯齿形牙、间质性角膜炎、骨软骨炎、先天性耳聋等特殊体征，俗称梅毒儿。

3. 免疫性 梅毒的免疫为传染性免疫或有菌性免疫，即已感染梅毒螺旋体的个体对梅毒螺旋体的再感染有抵抗力，若梅毒螺旋体被清除，免疫力也随之消失。梅毒螺旋体侵入机体后，首先可被中性粒细胞和巨噬细胞吞噬，但不一定被杀死，只有在特异性抗体及补体协同下，吞噬细胞可杀灭梅毒螺旋体。随后，感染的机体可产生特异性细胞免疫和体液免疫，其中以迟发型超敏反应为主的细胞免疫抗梅毒螺旋体感染作用较大。

在梅毒螺旋体感染的所有阶段，患者可产生梅毒螺旋体抗体和心磷脂抗体。梅毒螺旋体抗体可在补体存在的条件下，杀死或溶解梅毒螺旋体，同时对吞噬细胞有调理作用。心磷脂抗体又称反应素（reagin），能与生物组织中的某些脂类物质发生反应，无保护作用，仅用于梅毒血清学诊断。此外，梅毒患者体内常发现有多种自身抗体，如抗淋巴细胞抗体、类风湿因子、冷凝集素等，提示可能存在自身免疫反应。

（三）微生物学检查

1. 病原学检查 最适标本是硬下疳渗出液，其次是梅毒疹渗出液或局部淋巴结抽出液，可用暗视野显微镜观察活动的梅毒螺旋体，也可用直接免疫荧光或ELISA法检查。组织切片标本可用镀银染色法染色后镜检。

2. 血清学试验 有非梅毒螺旋体抗原试验和梅毒螺旋体抗原试验两类。

(1) 非螺旋体抗原试验：用正常牛心肌的心脂质（cardiolipin）作为抗原，测定患者血清中的反应素（抗脂质抗体）。国内较常用RPR（rapid plasma reagin）和TRUST（tolulized red unheated serum test）试验，前者以碳颗粒作为载体，结果呈黑色，后者以甲苯胺红为载体，结果呈红色，均用于梅毒初筛。VDRL（venereal disease reference laboratory）试验是诊断神经性梅毒唯一的血清学方法，也可用于梅毒初筛，但国内使用极少。因上述试验中均采用非特异性抗原，故一些非梅毒疾病如红斑性狼疮、类风湿关节炎、疟疾、麻风、麻疹等病人血清也可呈现假阳性结果，必须结合临床资料进行判断和分析。

(2) 螺旋体抗原试验：采用梅毒螺旋体Nichols株或Reiter株作为抗原，检测病人血清中特异性抗体，特异性高，用于梅毒确诊，但成本较高。国内较常用的螺旋体抗原试验有梅毒螺旋体血凝试验（treponemal pallidum hemagglutination assay，TPHA）、梅毒螺旋体明胶凝集试验（treponemal pallidum particle agglutination assay，TPPA），其次尚有梅毒螺旋体抗体微量血凝试验

笔记

(microhemagglutination assay for antibody to treponema pallidum, MHA-TP)、荧光密螺旋体抗体吸收(fluorescent treponemal antibody-absorption, FTA-ABS)试验等。梅毒螺旋体制动(treponemal pallidum immobilizing, TPI)试验用于检测血清标本中是否存在能抑制梅毒螺旋体活动的特异性抗体,虽有较高特异性,但需使用大量的活梅毒螺旋体,现已少用。此外,近年来报道用单一或多种重组 TpN 蛋白为抗原建立的 ELISA 或梅毒螺旋体 IgG 抗体捕获 ELISA、免疫印迹法等,也有较好的检测效果。

由于新生儿先天性梅毒易受过继免疫的抗体干扰,部分患儿不产生特异性 IgM,故诊断较为困难。当脐血特异性抗体明显高于母体、患儿有较高水平特异性抗体或抗体效价持续上升时才有辅助临床诊断价值。

(3) 分子生物学检查法 常用荧光定量 PCR 扩增梅毒螺旋体 *TpN47*、*polA* 等基因特异性片段,用于血清学阴性的早期梅毒、神经梅毒及胎传梅毒等诊断。

(四) 防治原则

梅毒是性病,加强性卫生教育和性卫生是减少梅毒发病率的有效措施。梅毒确诊后,应及早予以彻底治疗,现多采用青霉素类药物治疗 3 个月至 1 年,以血清反应素抗体转阴为治愈指标,且治疗结束后需定期复查。目前尚无梅毒疫苗。

二、其他密螺旋体

(一) 苍白密螺旋体地方亚种

苍白密螺旋体地方亚种是非性病梅毒,又称**地方性梅毒**(endemic syphilis)的病原体。地方性梅毒主要发生于非洲,也可见于中东和东南亚等地区,主要通过污染的食具经黏膜传播。临床主要表现为有高度传染性的皮肤损害,晚期的内脏并发症少见。青霉素治疗有效。

(二) 苍白螺旋体极细亚种

苍白螺旋体极细亚种是雅司病(yaws)的病原体,主要通过与患者病损皮肤直接接触而感染。原发性损害主要是四肢杨梅状丘疹,皮损处常形成瘢痕,骨破坏性病变常见,内脏和神经系统的并发症少见。青霉素治疗有效。

(三) 品他密螺旋体

品他密螺旋体是品他病(pinta)的病原体,主要通过与患者病损皮肤的直接接触而感染。原发性损害是皮肤出现瘙痒性小丘疹,遍及面、颈、胸、腹和四肢,继而扩大、融合、表面脱屑,数月后呈扁平丘疹,色素加深。感染后 1~3 年,皮损处色素减退,甚至消失呈白瓷色斑,最后皮肤结痂、变形。

第三节 疏螺旋体属

疏螺旋体属(*Borrelia*)螺旋体有 3~10 个稀疏且不规则的螺旋。对人有致病性的主要有伯道疏螺旋体(*B.burgdorferi*)和回归热螺旋体(*B. recurrentis*),分别引起莱姆病和回归热。

一、伯道疏螺旋体

伯道疏螺旋体是莱姆病(Lyme disease)的主要病原体。1977 年,莱姆病发现于美国康涅狄格州的莱姆镇,5 年后由 Burgdorfer 从硬蜱及病人体内分离出伯道疏螺旋体,并证实为莱姆病的病原体。莱姆病病原体存在着异质性,其分类也未统一,目前仍以伯道疏螺旋体作为莱姆病病原体的统称。莱姆病以蜱为媒介进行传播,人和多种动物均可感染。目前我国已有十余个省和自治区证实有莱姆病存在。

(一) 生物学性状

1. **形态与染色** 长 10~40 μm,宽 0.1~0.3 μm,两端稍尖(图 21-4),有 2~100 根内鞭毛。

笔记

伯道疏螺旋体运动活泼，有扭转、翻滚、抖动等多种运动方式。革兰染色阴性，但不易着色。镀银染色、Giemsa 或 Wright 染色效果较好。

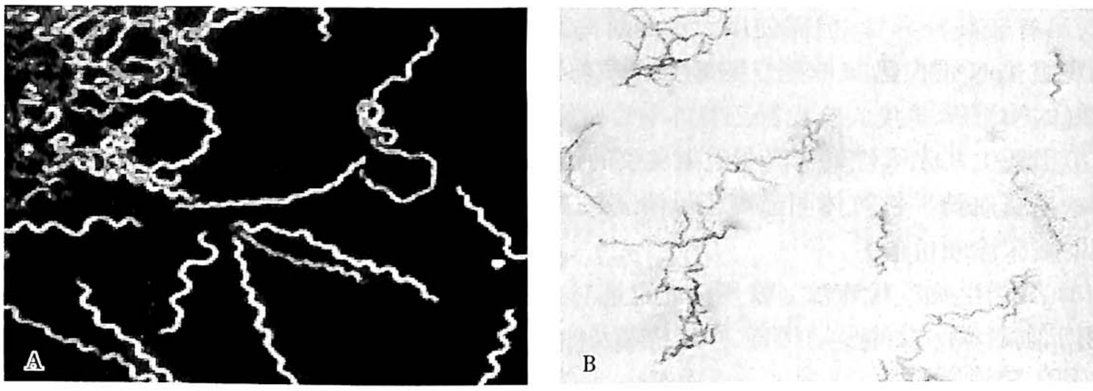


图 21-4 荧光抗体(A)和镀银(B)染色的伯道疏螺旋体
A：荧光显微镜，×3000；B：光学显微镜，×1000

2. 培养特性 营养要求高，培养基需含有长链饱和及不饱和脂肪酸、葡萄糖、氨基酸和牛血清白蛋白。微需氧或需氧，5%~10% CO_2 促进生长。适宜培养温度为 35℃。生长缓慢，在液体培养基中分裂繁殖一代的时间约为 18 小时，故通常需培养 2~3 周。伯道疏螺旋体在液体培养基中易相互缠绕成团，在 1% 软琼脂固体培养基表面可形成边缘整齐、直径 0.40~0.45μm 的菌落。

3. 抗原构造和分类 伯道疏螺旋体有多种主要表面蛋白抗原，包括外膜蛋白 OspA~F 及外膜脂蛋白。外表蛋白 A(outer superficial protein A，OspA)和外表蛋白 B(OspB)为伯道疏螺旋体主要表面抗原，有种特异性，其抗体有免疫保护作用。近年报道外表蛋白 C(OspC)也有一定的免疫保护性。41kDa 鞭毛蛋白是优势抗原，可诱导特异性体液和细胞免疫。外膜脂蛋白和热休克蛋白无种特异性。

用 DNA 同源性分析世界各地分离出的莱姆病菌株，发现引起莱姆病的疏螺旋体至少有 3 种：①伯道疏螺旋体，主要分布于美国和欧洲；②伽氏疏螺旋体(*B. garinii*)，主要分布于欧洲和日本；③埃氏疏螺旋体(*B. afelii*)，主要分布于欧洲和日本。美国分离的伯道疏螺旋体有 OspA，欧洲分离的伯道疏螺旋体 OspA 少见，我国分离的的伯道疏螺旋体与欧洲分离株较为接近。

4. 基因组 伯道疏螺旋体 B31 株基因组由 1 个 910 724bp 的线性染色体与 12 个线性质粒和 9 个环状质粒组成。

5. 抵抗力 抵抗力弱。60℃加热 1~3 分钟即死亡，0.2% 甲酚皂或 1% 苯酚溶液处理 5~10 分钟即被杀灭。对青霉素、头孢菌素、红霉素敏感。

（二）流行环节

莱姆病是自然疫源性传染病。储存宿主多为野生和驯养的哺乳动物，其中以鼠和鹿较为重要。主要传播媒介是硬蜱，已确定的有 4 种：美国的丹敏硬蜱、太平洋硬蜱以及欧洲的蓖子硬蜱、亚洲的全沟硬蜱。伯道疏螺旋体可在蜱的中肠生长繁殖，叮咬宿主时，通过肠内容物反流、唾液或粪便感染宿主。我国莱姆病高发地区主要在东北和内蒙古林区。莱姆病有明显的季节性，初发于 4 月末，6 月份达高峰，8 月份以后仅见散在病例。

（三）致病性和免疫性

1. 致病物质 伯道疏螺旋体物致病机制迄今尚未明确，其致病可能是某些致病物质以及病理性免疫反应等多因素综合作用的结果。

（1）侵袭力：伯道疏螺旋体能黏附、侵入成纤维细胞及人脐静脉内皮细胞并在胞浆中生存。此黏附可被多价抗血清或外膜蛋白 OspB 单克隆抗体所抑制，表明伯道疏螺旋体表面存在黏附

笔记

和侵袭因子。伯道疏螺旋体黏附的受体是靶细胞胞外基质（ECM）中的纤维连接蛋白（FN）和核心蛋白多糖（decorin，DEN）。

（2）抗吞噬作用：伯道疏螺旋体临床分离株对小鼠毒力较强，在人工培养基中反复传代后毒力明显下降，易被小鼠吞噬细胞吞噬和杀灭，此时外膜蛋白 OspA 也逐渐消失，故推测 OspA 与抗吞噬作用有关。

（3）内毒素样物质（endotoxin-like substance，ELS）：伯道疏螺旋体细胞壁中的脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）具有类似细菌内毒素的生物学活性。

2. 所致疾病 莱姆病是一种慢性全身感染性疾病，病程可分为三期：早期局部性感染、早期播散性感染和晚期持续性感染。

早期局部性感染表现为疫蜱叮咬后经 3~30 天的潜伏期，在叮咬部位出现一个或数个慢性移行性红斑（erythema chronicum migrans，ECM），伴有头痛、发热、肌肉和关节疼痛、局部淋巴结肿大等症状。ECM 初为红色斑疹或丘疹，继而扩大为圆形皮损，直径 5~50cm，边缘鲜红，中央呈退行性变，多个 ECM 重叠在一起可形成枪靶形。早期播散性感染多表现为继发性红斑、面神经麻痹、脑膜炎等。未经治疗的莱姆病病人约 80% 可发展至晚期，主要表现为慢性关节炎、周围神经炎和慢性萎缩性肌皮炎。

3. 免疫性 伯道疏螺旋体感染后可产生特异性抗体，但抗体应答迟缓。抗伯道疏螺旋体感染主要依赖于特异性体液免疫，如特异性抗体能增强吞噬细胞吞噬及杀灭伯道疏螺旋体的作用，从而清除伯道疏螺旋体。特异性细胞免疫的保护作用尚有争议。

（四）微生物学检查

1. 标本采集 整个病程中伯道疏螺旋体数量均较少，难以分离培养，主要取患者血清标本进行血清学检查。有时也可采集皮损、血液、脑脊液、关节液、尿液等标本用分子生物学方法检测。

2. 病原学检查 主要采用 PCR 检测标本中伯道疏螺旋体 DNA 片段。

3. 血清学检查 使用最广泛的是免疫荧光法和 ELISA。ELISA 方法简便，特异性和敏感性较高，为多数实验室所采用。特异性 IgM 抗体在 ECM 出现后 2~4 周形成，6~8 周达峰值，4~6 个月后恢复正常。IgG 抗体出现较迟，其峰值出现于发病后 4~6 个月，并持续至病程的晚期。鞭毛蛋白抗体主要是 IgM，Osp 抗体主要是 IgG。若脑脊液中检出特异性抗体，表示中枢神经系统已被累及。ELISA 阳性时，需用免疫印迹技术分析其特异性，有助于排除 ELISA 的假阳性反应。由于伯道疏螺旋体与苍白密螺旋体等有共同抗原、有多种莱姆病病原体、不同菌株表达的抗原差异及其变异，ELISA 和免疫印迹检测结果仍需结合临床资料进行判定。

（五）防治原则

疫区工作人员要加强个人保护，避免蜱叮咬。根据患者不同的临床表现及病程采用不同的抗生素及给药方式。早期莱姆病用多西环素、阿莫西林或红霉素，口服即可。晚期莱姆病时存在多种深部组织损害，一般用青霉素联合头孢曲松等静脉滴注。目前尚无疫苗。

二、回归热螺旋体

回归热（relapsing fever）是一种以反复周期性急起急退的高热为临床特征的急性传染病。多种疏螺旋体均可引起回归热。根据回归热病原体及其传播媒介昆虫的不同，可分为两类：①虱传回归热：也称流行性回归热，其病原体为**回归热疏螺旋体**（*B.recurrentis*），传播媒介是虱；②蜱传回归热：也称地方性回归热，其病原体为杜通疏螺旋体（*B. duttonii*）、赫姆斯疏螺旋体（*B. hermsii*）等，主要通过软蜱传播。蜱传回归热临床表现与虱传回归热相似，但症状较轻，病程较短。我国流行的回归热主要是虱传型。

（一）生物学性状

1. 形态与染色 长 10~30μm，宽约 0.3μm（图 21-5）。有 3~10 个不规则的螺旋，运动活泼，

笔记

革兰染色阴性，Giemsa 染色呈紫红色，Wright 染色呈棕红色。

2. 培养特性 微需氧，最适生长温度为 28~30℃，在含血液、血清或动物蛋白的液体培养基上能生长，但分裂繁殖一代约需 18 小时，在体外传数代后，其致病性丧失。

3. 抗原构造和分类 有类属抗原和特异性抗原，但抗原性极易变异。在病程中可从同一个病人体内分离出几种抗原结构不同的变异株。

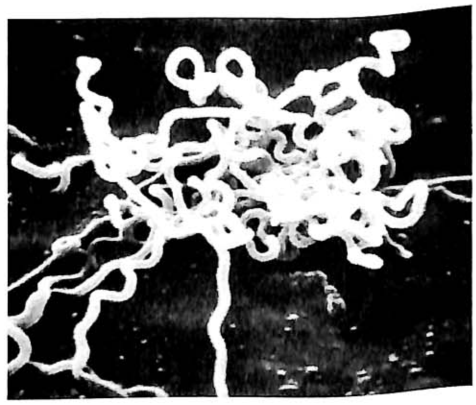


图 21-5 回归热疏螺旋体
（扫描电镜，×12 000）

（二）流行环节

回归热螺旋体储存宿主是啮齿类动物，虱或软蜱叮咬动物宿主后被感染，其体腔、唾液、粪便中均可含有回归热螺旋体。虱或软蜱叮咬人后，回归热螺旋体经伤口直接进入体内引起疾病。

（三）致病性和免疫性

1. 致病性 回归热螺旋体感染人后，经 3~10 天潜伏期病人突发高热，持续 3~5 天退热，约一周后又出现高热，如此反复发作达 3~10 次。急起急退的反复周期性高热、全身肌肉酸痛、肝脾肿大为回归热的临床特征，重症患者可出现黄疸和出血。

2. 免疫性 感染后机体可产生特异性抗体，抗体在补体协同下可裂解回归热螺旋体。但回归热螺旋体外膜蛋白极易发生变异，所形成的突变株可以逃避抗体的攻击，突变株繁殖到一定数量时则引起第二次高热，如此反复多次，直至机体产生的多种特异性抗体能对各种变异株发挥作用，回归热螺螺旋方被清除。感染后免疫力维持时间短暂。

（四）微生物学检查

采集发热期的外周血标本，直接涂片后进行 Giemsa 染色，光学显微镜下可见比红细胞长数倍、并且有疏松螺旋的螺旋体，但退热期血液中常无螺旋体。

（五）防治原则

进入疫区人员应避免虱和蜱的叮咬。青霉素、四环素、红霉素治疗有效。目前尚无疫苗产品。

三、奋森疏螺旋体

奋森疏螺旋体（*B. vincentii*）的形态与回归热疏螺旋体相似。正常情况下，奋森疏螺旋体与梭形梭杆菌（*Fusobecterium fusiforme*）共同寄居于人类口腔牙龈部位，当机体免疫功能下降时，奋森疏螺旋体与梭形梭杆菌大量繁殖，协同引起奋森咽峡炎、牙龈炎、口腔坏疽等疾病。微生物学检查时可采取局部病变材料直接涂片，革兰染色镜检可观察到疏螺旋体和梭状杆菌。

（严 杰）

笔记

第二篇　病　毒　学

病毒（virus）是形态最微小，结构最简单的微生物。因体积微小，必须用电子显微镜放大几万至几十万倍后方可观察；结构简单表现为无完整的细胞结构，仅有一种类型核酸（RNA 或 DNA）作为其遗传物质。为保护其核酸不被核酸酶等破坏，外围有蛋白衣壳或包膜。病毒因缺少编码能量代谢或蛋白质合成所需元件（线粒体、核糖体）的遗传信息，只有在活细胞内方可显示其生命活性。与其他胞内专性寄生的微生物不同的是，病毒进入活细胞后，不是进行类似细菌等的二分裂繁殖，而是根据病毒核酸的指令，改变细胞的一系列生命活动，复制出大量子代病毒，并导致细胞发生多种改变。由于**病毒无细胞结构、只有一种核酸为遗传物质、必须在活细胞内才能显示生命活性，故病毒被列为一个独立的微生物类型，即非细胞型微生物**（acellular　microorganism）。

病毒在医学微生物中占有十分重要的地位。在微生物引起的疾病中，由病毒引起的疾病约占 75%。常见的病毒性疾病有肝炎、流行性感冒、脑炎、腹泻和艾滋病等。病毒性疾病不仅传染性强、流行广，而且有效药物少。除急性感染外，有些病毒还可引起持续性感染，还与肿瘤和自身免疫病的发生密切相关。随着分子生物学和分子流行病学的发展，使人们对病毒与宿主的关系有了新的认识，其致病机制不断被揭示，病毒学已成为医学与生命科学研究的热门学科之一。

第二十二章　病毒的基本性状

第一节　病毒的大小与形态

一个完整成熟的病毒颗粒称为**病毒体**（virion），是病毒在细胞外的典型结构形式，并有感染性。病毒体大小的测量单位为**纳米或毫微米**（nanometer，nm，为 1/1000 μm）。各种病毒体的大小差别悬殊，最大约为 300nm，如痘病毒；最小的约为 20nm，如细小 DNA 病毒。多数人和动物病毒呈球形或近似球形，少数为杆状、丝状、弹状和砖块状，噬菌体呈蝌蚪状。病毒体与其他微生物大小和形态的比较见图 22-1。测量病毒体大小最可靠的方法是电子显微镜技术，也可用超速离心沉淀、分级超过滤和 X 线晶体衍射等技术来研究病毒的大小、形态、结构和亚单位等。病毒与其他微生物的比较参见表 22-1。

笔记

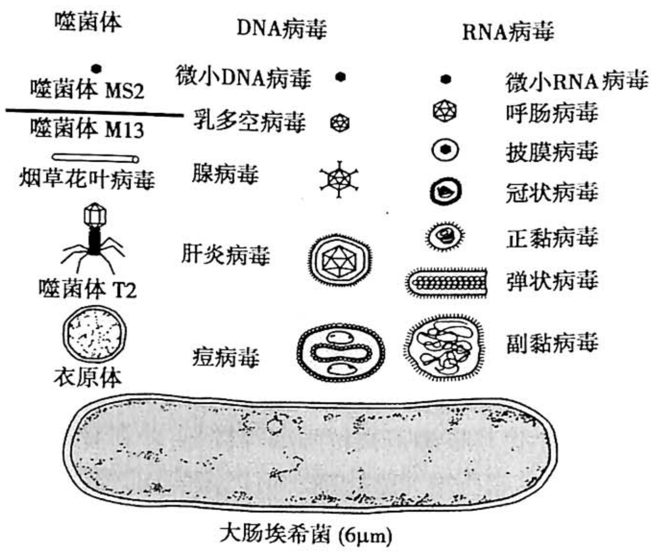


图 22-1 各类病毒形态、大小比较结构示意图

表 22-1 病毒与其他微生物的比较

特性	病毒	细菌	支原体	立克次体	衣原体	真菌
结构	非细胞	原核细胞	原核细胞	原核细胞	原核细胞	真核细胞
有无细胞壁	−	+	−	+	+	+
核酸类型	DNA 或 RNA	DNA + RNA	DNA + RNA	DNA + RNA	DNA + RNA	DNA + RNA
在人工培养基上生长	−	+	+	−	−	+
细胞培养	+	一般不用	一般不用	+	+	一般不用
通过细菌滤器	+	−	+	−	+	−
增殖方式	复制	二分裂	二分裂	二分裂	二分裂	有性或无性
抗生素敏感性	−	+	+	+	+	+
干扰素敏感性	+	−	−	−	−	−

第二节 病毒的结构和化学组成

一、病毒的结构

（一）核衣壳

病毒体的基本结构是由核心（core）和衣壳（capsid）构成的**核衣壳**（nucleocapsid）。有些病毒的核衣壳外有**包膜**（envelope）**和包膜的构成成分刺突**（spike）（图 22-2）。**有包膜的病毒称为包膜病毒**（enveloped virus），**无包膜的病毒体称裸露病毒**（naked virus）。

1. **核心** 位于病毒体的中心，主要成分为核酸，构成病毒基因组，为病毒的复制、遗传和变异提供遗传信息。除核酸外还可能有少量病毒的非结构蛋白，如病毒核酸多聚酶、转录酶或逆转录酶等。

2. **衣壳** 包绕在核酸外面的蛋白质外壳。**衣壳具有抗原性**，是病毒体的主要抗原成分。**可保护病毒核酸免受环境中核酸酶或其他影响因素的破坏，并能介导病毒进入宿主细胞**。衣壳系

笔记

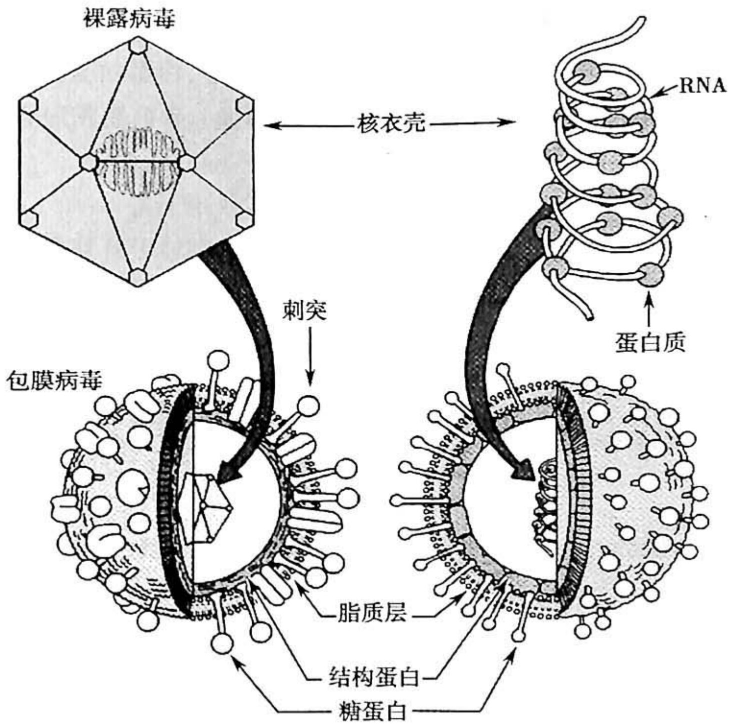


图 22-2 包膜病毒、裸露病毒二十面体对称和螺旋对称结构示意图

由一定数量的壳粒(capsomeres)组成,每个壳粒被称为形态亚单位(morphologic subunit),由一个或多个多肽分子组成。壳粒的排列方式呈对称性,不同的病毒体,衣壳所含的壳粒数目和对称方式不同,可作为病毒鉴别和分类的依据之一。病毒可分为以下几种对称类型:

(1) 螺旋对称(helical symmetry)型:壳粒沿着螺旋形盘旋的病毒核酸链对称排列。如正黏病毒、副黏病毒及弹状病毒等。

(2) 二十面体对称(icosahedral symmetry)型:核酸浓集成球形或近似球形,外周的壳粒排列成二十面体对称型。二十面体的每个面都呈等边三角形,由许多壳粒镶嵌组成。大多数病毒体顶端的壳粒由 5 个同样的壳粒包围,称为五邻体(penton);而在三角形面上的壳粒,周围都有 6 个同样壳粒,称为六邻体(hexon)。大多数球状病毒呈此对称型。多数情况下病毒的衣壳是包绕核酸形成的,但也可见到先形成空衣壳,再装灌核酸的情况。

(3) 复合对称(complex symmetry)型:病毒体结构较复杂,既有螺旋对称又有二十面体对称形式。仅见于痘病毒和噬菌体等。经测定,用二十面立体构成的外壳最为坚固,内部容积最大。螺旋对称型衣壳则相对不坚固,衣壳外需有包膜。

(二) 包膜

包膜是包绕在病毒核衣壳外面的双层膜,是**某些病毒在成熟的过程中穿过宿主细胞,以出芽方式向宿主细胞外释放时获得的,含有宿主细胞膜或核膜成分,包括脂质、多糖和少许蛋白质**。包膜表面常有不同形状的突起,称为**包膜子粒**(peplomere)**或刺突**(spike)。其化学成分为糖蛋白(glycoprotein, gp),亦称刺突糖蛋白。流感病毒的刺突是由天门冬酰胺连接碳水化合物形成的糖蛋白组成(图 22-3)。

(三) 其他辅助结构

如腺病毒在 20 面体的各个顶角上有触须样纤维(antennal fiber),亦称纤维刺突或纤突,能凝集某些动物红细胞并损伤宿主细胞。

有包膜的病毒称为包膜病毒(enveloped virus),无包膜的病毒称为裸露病毒(naked virus)。人和动物病毒多数具有包膜。某些有包膜病毒在核衣壳外层和包膜内层之间有基质蛋白,其主

笔记

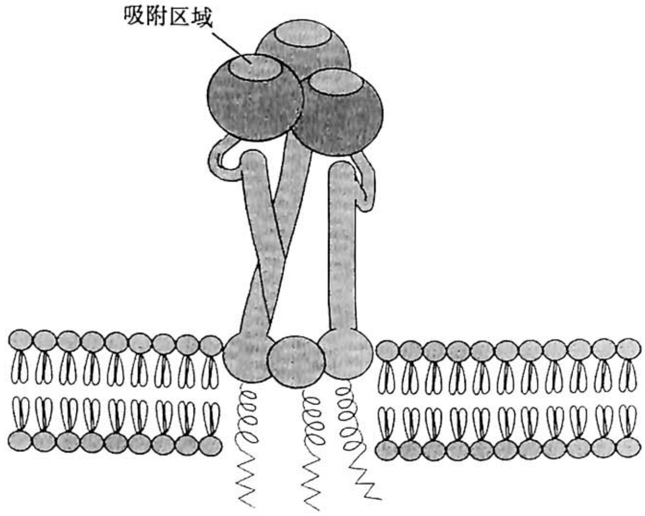


图 22-3 刺突结构示意图(流感病毒血凝素糖蛋白三聚体)

要功能是把内部的核衣壳蛋白与包膜联系起来,此区域称为被膜。不同种病毒的被膜厚度不一致,也可作为病毒鉴定的参考。因此,病毒的大小、形态和结构在病毒分类和病毒感染诊断中具有重要价值。

二、病毒的化学组成与功能

(一) 病毒核酸

病毒核酸的**化学成分为 DNA 或 RNA**,以此分成 DNA 和 RNA 病毒两大类。核酸具有多样性,可为线型或环型,可为单链或双链,DNA 病毒大多为双链,细小 DNA 病毒(parvovirus)和环状病毒(circovirus)除外;RNA 病毒大多是单链,呼肠病毒(reovirus)和博纳病毒(Borna virus)除外。单链 RNA 有正链与负链之分。双链 DNA 或 RNA 皆有正链与负链。有的病毒核酸分节段。病毒核酸大小差异悬殊,细小病毒仅由 5000 个核苷酸组成,而最大的痘类病毒则由约 4 000 000 个核苷酸组成。**病毒核酸是主导病毒感染、增殖、遗传和变异的物质基础**。其主要功能有:①指导病毒复制:病毒的增殖是以基因组为模板,经过转录、翻译过程合成病毒的前体形式,如子代核酸、结构蛋白,然后再装配成子代病毒体;②决定病毒的特性:病毒核酸链上的基因密码记录着病毒全部信息,由它复制的子代病毒保留亲代病毒的一切特性,故亦称为病毒的基因组(genome);③部分核酸具有感染性:除去衣壳的病毒核酸进入宿主细胞后能增殖,被称为感染性核酸。感染性核酸不受衣壳蛋白和宿主细胞表面受体的限制,易感细胞范围较广。但易被体液中核酸酶等因素破坏,因此感染性比完整的病毒体要低。

(二) 病毒蛋白质

蛋白质是病毒的主要组成部分,约占病毒体总重量的 70%,由病毒基因组编码,具有病毒的特异性。**病毒蛋白可分为结构蛋白和非结构蛋白**。结构蛋白指的是组成病毒体的蛋白成分,主要分布于衣壳、包膜和基质中,具有良好的抗原性。包膜蛋白多突出于病毒体外,即刺突糖蛋白。**能与宿主细胞表面受体结合的蛋白称为病毒吸附蛋白**(viral attachment protein,VAP),VAP 与受体的相互作用决定了病毒感染的组织亲嗜性,如与红细胞结合的 VAP 称为血凝素(hemagglutinin,HA)(图 22-3)。有些糖蛋白还是免疫保护作用的主要抗原。基质蛋白是连接衣壳蛋白和包膜蛋白的部分,多具有跨膜和锚定(anchor)的功能。病毒结构蛋白有以下几种功能:①保护病毒核酸:衣壳蛋白包绕着核酸,避免了环境中的核酸酶和其他理化因素对核酸的破坏。②参与感染过程:VAP 能特异地吸附至易感细胞表面受体上,介导病毒核酸进入宿主细胞,引起感染。③具有抗原性:衣壳蛋白是一种良好抗原,病毒进入机体后,能引起特异性体液免疫和细

笔记

胞免疫。病毒的非结构蛋白是指由病毒基因组编码，但不参与病毒体构成的病毒蛋白，包括病毒编码的酶类和特殊功能的蛋白，如蛋白水解酶、DNA 聚合酶、逆转录酶、胸腺嘧啶核苷激酶和抑制宿主细胞生物合成的蛋白等。病毒的非结构蛋白不一定存在于病毒体内，也可存在于感染细胞中。

（三）脂类和糖

病毒体的脂质主要存在于包膜中，有些病毒含少量糖类，以糖蛋白形式存在，也是包膜的表面成分之一。**包膜的主要功能是维护病毒体结构的完整性**。包膜中所含磷脂、胆固醇及中性脂肪等能加固病毒体的结构。来自宿主细胞膜的病毒体包膜的脂类与细胞脂类成分同源，彼此易于亲和及融合，因此包膜也起到辅助病毒感染的作用。另外，包膜具有病毒种、型特异性，是病毒鉴定和分型的依据之一。包膜构成病毒体的表面抗原，与致病性和免疫性有密切关系。包膜对干、热、酸和脂溶剂敏感，乙醚能破坏病毒包膜，使其灭活而失去感染性，常用来鉴定病毒有无包膜。

第三节　病毒的增殖

病毒缺乏增殖所需的酶系统，只能在有易感性的活细胞内进行增殖。病毒增殖的方式是以其基因组为模板，在 DNA 聚合酶或 RNA 聚合酶以及其他必要因素作用下，经过复杂的生化合成过程，复制出病毒的基因组，病毒基因组则经过转录、翻译过程，合成大量的病毒结构蛋白，再经过装配，最终释放出子代病毒。这种以病毒核酸分子为模板进行复制的方式称为自我复制（self replication）。

（一）病毒的复制周期

从病毒进入宿主细胞开始，经过基因组复制，到最后释放出子代病毒，称为一个复制周期（replication cycle）。感染性病毒颗粒从复制初期结构消失，即进入隐蔽期（eclipse period），继而进入增殖期。病毒量逐渐增多的时间长短视病毒种类而异。人和动物**病毒的复制周期依次包括吸附、穿入、脱壳、生物合成及装配与释放**等 5 个阶段。

1. 吸附（adsorption）　病毒吸附于宿主细胞表面是感染的第一步。吸附主要是通过病毒表面的吸附蛋白与易感细胞表面特异性受体相结合。不同细胞表面有不同受体，它决定了病毒的不同嗜组织性和感染宿主的范围，如无包膜小 RNA 病毒衣壳蛋白特定序列能与人及灵长类动物细胞表面脂蛋白受体结合，而腺病毒衣壳触须样纤维能与细胞表面特异性蛋白相结合。有包膜病毒多通过表面糖蛋白结构与细胞受体结合，如流感病毒 HA 糖蛋白与细胞表面受体唾液酸结合发生吸附；人类免疫缺陷病病毒（HIV）包膜糖蛋白 gp120 的受体是人 Th 细胞表面 CD4 分子；EB 病毒则能与 B 细胞 CD21 受体结合。VAP 与受体是组织亲嗜性的主要决定因素，却并不是唯一的决定因素，如流感病毒受体存在于许多组织中，但病毒却不能感染所有的细胞类型。无包膜病毒通过衣壳蛋白或突起作为 VAP 吸附于受体。病毒不能吸附于无受体细胞，因而不能发生感染。细胞含受体数不尽相同，最敏感细胞可含 10 万个受体。吸附过程可在几分钟到几十分钟内完成。常见病毒的 VAP 与宿主细胞受体见表 22-2。

表 22-2　常见病毒 VAP 与相应的宿主细胞受体

病毒	VAP	宿主细胞的受体
脊髓灰质炎病毒	VP1~VP3	特异膜受体（Ig 超家族成员）
鼻病毒	VP1~VP3	黏附因子Ⅰ（ICAM-Ⅰ）
埃可病毒	VP1~VP3	连接素（nectin）

笔记

续表

病毒	VAP	宿主细胞的受体
甲型流感病毒	HA	唾液酸
麻疹病毒	HA	CD46
单纯疱疹病毒	gB、gC、gD	硫酸乙酰肝素聚糖及 FGF 受体
EBV	gp 350	CD21
人巨细胞病毒	CD13 样分子	MHC Ⅰ类抗原的 β 2m
HIV	gp120	CD4、CCR5、CXCR4
狂犬病病毒	GpG	乙酰胆碱受体(横纹肌细胞)
呼肠病毒	δ 1 蛋白	β - 肾上腺素受体

2. 穿入(penetration) 病毒吸附在宿主细胞膜后,主要是通过吞饮、融合、直接穿入等方式进入细胞。①吞饮(endocytosis),即病毒与细胞表面结合后内凹入细胞,细胞膜内陷形式类似吞噬泡,病毒整体地进入细胞质内。无包膜的病毒多以吞饮形式进入易感动物细胞内;②融合(fusion),是指病毒包膜与细胞膜密切接触,在融合蛋白的作用下,病毒包膜与细胞膜融合,而将病毒的核衣壳释放至细胞质内。有包膜的病毒,如正黏病毒、副黏病毒、疱疹病毒等都以融合的形式穿入细胞。有的病毒体表面位点与细胞受体结合后,由细胞表面的酶类协助病毒脱壳,使病毒核酸直接进入宿主细胞内,如噬菌体。

3. 脱壳(uncoating) 病毒体必须脱去蛋白质衣壳后,核酸才能发挥作用。多数病毒在穿入细胞时已在细胞的溶酶体酶的作用下脱壳释放出核酸。少数病毒的脱壳过程较复杂。这些病毒往往是在脱壳前,病毒的酶已在起转录 mRNA 的作用。

4. 生物合成(biosynthesis) 病毒基因组一旦从衣壳中释放后,就进入病毒复制的生物合成阶段,即病毒利用宿主细胞提供的低分子物质大量合成病毒核酸和蛋白。用血清学方法和电镜检查宿主细胞,在生物合成阶段找不到病毒颗粒,故被称为隐蔽期。各种病毒该期的长短不一,如脊髓灰质炎病毒为 3~4 小时,披膜病毒 5~7 小时,正黏病毒 7~8 小时,副黏病毒 11~12 小时,腺病毒 16~17 小时。

在生物合成阶段,根据病毒基因组转录 mRNA 及翻译蛋白质的不同,病毒生物合成过程可归纳为 7 大类型:即双链 DNA 病毒、单链 DNA 病毒、单正链 RNA 病毒、单负链 RNA 病毒、双链 RNA 病毒、逆转录病毒和嗜肝 DNA 病毒。不同生物合成类型的病毒,其生物合成过程不同。

(1) 双链 DNA 病毒:人和动物 DNA 病毒多数是双链 DNA(dsDNA),例如疱疹病毒、腺病毒。它们在细胞核内合成 DNA,在细胞质内合成病毒蛋白;只有痘病毒例外,因其本身携带 DNA 多聚酶,DNA 和蛋白质都在细胞质内合成。双链 DNA 病毒首先利用细胞核内依赖 DNA 的 RNA 聚合酶,转录出早期 mRNA,再在胞质内核糖体翻译成早期蛋白。这些早期蛋白是非结构蛋白,主要为合成病毒子代 DNA 所需要的 DNA 多聚酶及脱氧胸腺嘧啶激酶。然后以子代 DNA 分子为模板,大量转录晚期 mRNA,继而在胞质核糖体上翻译出病毒的晚期蛋白即结构蛋白,主要为衣壳蛋白。其实,病毒在合成衣壳蛋白时,首先合成一个大的蛋白,再由蛋白酶将其降解为若干个小的衣壳蛋白,为以后的组装作好准备。

如果没有蛋白酶作用,或者由于蛋白酶抑制剂的作用灭活了蛋白酶,不能形成衣壳蛋白,则病毒无法完成组装。dsDNA 通过半保留复制形式,大量生成与亲代结构完全相同的子代 DNA(图 22-4)。

(2) 单链 DNA 病毒:单链 DNA(ssDNA)病毒以亲代为模板,在 DNA 聚合酶的作用下,产生互补链,并与亲代 DNA 链形成 ± dsDNA 作为复制中间型 (replicative intermediate,RI),然后解

笔记

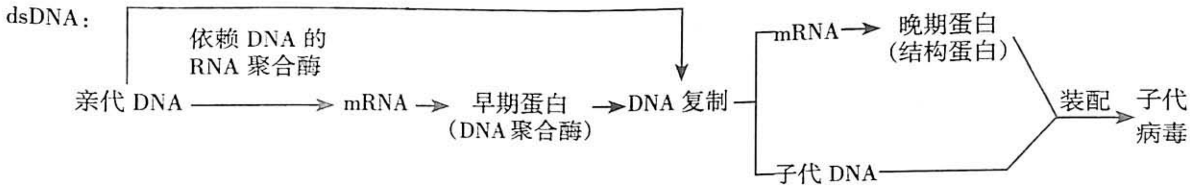


图 22-4　dsDNA 病毒复制示意图

链，由新合成互补链为模板复制出子代 ssDNA，转录 mRNA 和翻译合成病毒蛋白质。

（3）单正链 RNA 病毒：单正链 RNA（+ssRNA）病毒不含 RNA 聚合酶，但其本身具有 mRNA 的功能，可直接附着于宿主细胞的核糖体上翻译早期蛋白——依赖 RNA 的 RNA 聚合酶。在该酶的作用下，转录出与亲代正链 RNA 互补的负链 RNA。形成的双链 RNA（±RNA）即复制中间型（RNA RI），其中正链 RNA 起 mRNA 作用翻译晚期蛋白（病毒衣壳蛋白及其他结构蛋白），负链 RNA 起模板作用，转录与负链 RNA 互补的子代病毒 RNA（图 22-5）。

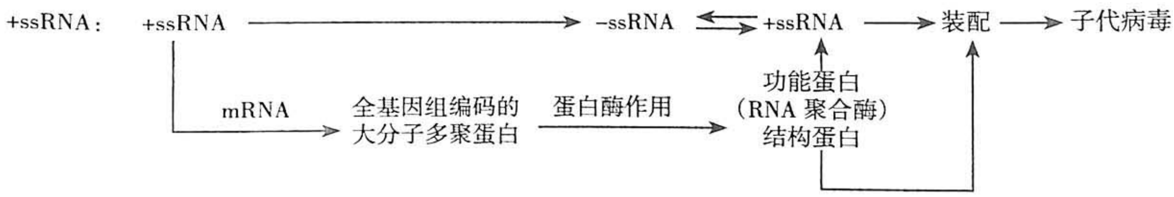


图 22-5　+ssRNA 病毒复制示意图

（4）单负链 RNA 病毒：大多数有包膜的 RNA 病毒都属于单负链 RNA（–ssRNA）病毒。这种病毒含有依赖 RNA 的 RNA 聚合酶。病毒 RNA 在此酶的作用下，首先转录出互补正链 RNA，形成 RNA 复制中间型，再以其正链 RNA 为模板（起 mRNA 作用），转录出与其互补的子代负链 RNA，同时翻译出病毒结构蛋白和酶。

（5）双链 RNA 病毒：病毒双链 RNA（dsRNA）在依赖 RNA 的 RNA 聚合酶作用下转录 mRNA，再翻译出蛋白。双链 RNA 病毒的复制与双链 DNA 病毒不同。双链 DNA 病毒分别由正、负链复制出对应链，而双链 RNA 病毒仅由负链 RNA 复制出正链 RNA，再由正链 RNA 复制出新负链 RNA，如轮状病毒 RNA 复制就不遵循 DNA 半保留复制的原则，因而轮状病毒子代 RNA 全部为新合成的 RNA。

（6）逆转录病毒：病毒在逆转录酶的作用下，以病毒 RNA 为模板，合成互补的负链 DNA 后，形成 **RNA：DNA 中间体**。中间体中的 RNA 由 RNA 酶 H 水解，在 DNA 聚合酶作用下，由 DNA 复制成双链 DNA。该双链 DNA 则整合至宿主细胞的 DNA 上，成为**前病毒**（provirus），再由其转录出子代 RNA 和 mRNA。mRNA 在胞质核糖体上翻译出子代病毒的蛋白质。

（7）嗜肝 DNA 病毒（DNA 逆转录病毒）：乙型肝炎病毒（HBV）属于该类型病毒，其基因组为不完全闭合 dsDNA，其复制有逆转录过程。逆转录过程发生在病毒转录后，在装配好的病毒衣壳中，以前病毒 DNA 转录的 RNA（前基因组）为模板进行逆转录，形成 RNA:DNA 中间体，RNA 水解后，以 –ssDNA 为模板，合成部分互补 +ssDNA，形成不完全双链的环状子代 DNA。

5. 装配与释放（assembly and release）　病毒核酸与蛋白质合成之后，根据**病毒的种类不同，在细胞内装配的部位和方式亦不同**。除痘病毒外，DNA 病毒均在细胞核内组装；除正黏病毒外大多数 RNA 病毒则在细胞质内组装。装配一般要经过核酸浓聚、壳粒集聚及装灌核酸等步骤。有包膜病毒还需在核衣壳外加一层包膜。包膜中的蛋白质是由病毒基因编码合成的，脂质及糖类都来自宿主细胞的细胞膜，个别病毒如疱疹病毒则来自细胞核膜。在装配完成后，裸露病毒随宿主细胞破裂而释放病毒，而有包膜的 DNA 病毒和 RNA 病毒则以出芽方式释放到细胞外，

笔记

宿主细胞通常不死亡。包膜蛋白质向胞质移动过程中经糖基转移酶与糖结合成为糖蛋白，与脂类结合成为脂蛋白。有些病毒如巨细胞病毒，很少释放到细胞外，而是通过细胞间桥或细胞融合在细胞之间传播，致癌病毒的基因组则可与宿主细胞染色体整合，随细胞分裂而出现在子代细胞中。

病毒复制周期的长短与病毒种类有关，如小 RNA 核糖核酸病毒为 6~8 小时，正黏病毒为 15~30 小时。每个细胞产生子代病毒的数量也因病毒和宿主细胞不同而异，多者可产生 10 万个病毒。

（二）病毒的异常增殖与干扰现象

1. 病毒的异常增殖 病毒在宿主细胞内复制时，并非所有的病毒成分都能组装成完整的病毒体，常有异常增殖。

（1）**顿挫感染**（abortive infection）：病毒进入宿主细胞后，如细胞不能为病毒增殖提供所需要的酶、能量及必要的成分，则病毒就不能合成本身的成分，或者虽合成部分或合成全部病毒成分，但不能组装和释放出有感染性的病毒颗粒，称为顿挫感染。不能为病毒复制提供必要条件的细胞称**非容纳细胞**（nonpermissive cell）。非容纳细胞对另一种病毒可能为容纳细胞（permissive cell）。病毒在非容纳细胞内呈顿挫感染，而在另一些细胞内则可能增殖，造成感染。例如，人腺病毒感染人胚肾细胞能正常增殖，若感染猴肾细胞则发生顿挫感染。猴肾细胞对人腺病毒而言，被称为非容纳细胞，但对脊髓灰质炎病毒则是容纳细胞。

（2）**缺陷病毒**（defective virus）：因病毒基因组不完整或者因某一基因位点改变，不能进行正常增殖，复制不出完整的有感染性病毒颗粒，此病毒称为缺陷病毒。但当与另一种病毒共同培养时，若后者能为前者提供所缺乏的物质，就能使缺陷病毒完成正常的增殖，这种有辅助作用的病毒被称为辅助病毒（helper virus）。腺病毒伴随病毒（adenoassociated virus）就是一种缺陷病毒，用任何细胞培养都不能增殖，只有与腺病毒共同感染细胞时才能完成复制周期。腺病毒即为腺病毒伴随病毒的辅助病毒。丁型肝炎病毒（hepatitis D virus，HDV）也是缺陷病毒，必须依赖于 HBV 才能复制。

2. 干扰现象（interference） 两种病毒感染同一细胞时，可发生一种病毒抑制另一种病毒增殖的现象称为干扰现象。干扰现象不仅发生在异种病毒之间，也可发生在同种、同型及同株病毒之间。如流感病毒的自身干扰。在同一病毒株中混有缺陷病毒，当与完整病毒同时感染同一细胞时，完整病毒的增殖受到抑制的现象叫自身干扰现象，发挥干扰作用的缺陷病毒称为**缺陷干扰颗粒**（defective interfering particle，DIP）。干扰现象不仅在活病毒间发生，灭活病毒也能干扰活病毒。病毒之间的干扰现象能够阻止发病，也可以使感染终止，使宿主康复。发生干扰的原因可能是因为病毒诱导宿主细胞产生了干扰素，也可能是病毒的吸附受到干扰或改变了宿主细胞代谢途径，阻止了另一种病毒的吸附和穿入等过程。

第四节 病毒的遗传与变异

病毒的基因组较简单，基因数仅 3~10 个，增殖速度极快，是较早用于遗传学研究的工具。病毒遗传与变异机制的明晰对于阐明某些病毒性疾病的发病机制以及病毒疫苗的制备和病毒性疾病的防治具有重要意义。

由于病毒的基因组很小，为充分利用其核酸，病毒基因组中的多种基因常以互相重叠的形式存在，即基因中的编码序列外显子（exon）之间有重叠。病毒基因的转录与翻译均需在细胞内进行，其基因组结构必须具有真核细胞基因组结构的特点，如含有内含子（intron）序列，具有转录后的剪切和后加工过程等。

笔记

一、基因突变

病毒在增殖过程中常发生基因组中碱基序列的置换、缺失或插入，引起基因突变，其自发突变率为 10^{-8}~10^{-6}。用物理因素(如紫外线或 γ 射线)或化学因素(如亚硝基胍，5- 氟尿嘧啶或 5- 溴脱氧尿苷)处理病毒时，也可诱发突变，提高突变率。由基因突变产生的病毒表型性状改变的毒株称为突变株(mutant)，突变株可呈多种表型，如病毒空斑或痘斑的大小、病毒颗粒形态、抗原性、宿主范围、营养要求、细胞病变以及致病性的改变等。常见的并有实际意义的突变株有以下几种：

1. **条件致死性突变株**(conditional lethal mutant) 只能在某种条件下增殖，而在另一种条件下则不能增殖的病毒株，如温度敏感性突变株(temperature sensitive mutant，ts)在 28~35℃条件下可增殖(称容许性温度)，而在 37~40℃条件下不能增殖(称非容许性温度)。ts 株可来源于基因任何部位的改变，产生各种各样的 ts 突变株，典型 ts 株的基因所编码的酶蛋白或结构蛋白质，在较高温度下(36~41℃)失去功能，故病毒不能增殖。ts 突变株常具有减低毒力而保持其免疫原性的特点，是生产减毒活疫苗的理想株，但 ts 株容易出现回复突变(回复率为 10^{-4})，因此在制备疫苗株时，必须经多次诱变后，才可获得在一定宿主细胞内稳定传代的突变株，亦称变异株(variant)。脊髓灰质炎减毒活疫苗就是这种稳定性 ts 变异株。

2. **缺陷型干扰突变株**(defective interference mutant，DIM) 指因病毒基因组中碱基缺失突变引起，其所含核酸较正常病毒明显减少，并发生各种各样的结构重排。多数病毒可自然发生 DIM。当病毒以高感染复制(高 PFU)传代时可出现 DIM。其特点是由于基因的缺陷而不能单独复制，必须在辅助病毒(通常是野生株)存在时才能进行复制，并同时能干扰野生株的增殖。对 DIM 的认识主要是来自细胞培养中的增殖试验，通过对野毒株的干扰作用，可以减弱野毒株的毒性；但 DIM 在一些疾病中也起重要作用，特别是与某些慢性疾病的发病机制有关。

3. **宿主范围突变株**(host-range mutant，hr) 指病毒基因组突变而影响了对宿主细胞的感染范围，能感染野生型病毒所不能感染的细胞，利用此特性可制备狂犬病疫苗，也可对分离的流感病毒株等进行基因分析，及时发现是否带有非人来源(禽、猪)流感毒株血凝素的毒株等。

4. **耐药突变株**(drug-resistant mutant) 临床上应用针对病毒酶的药物后，有时病毒经短暂被抑制后又重新复制，常因编码病毒酶基因的改变而降低了病毒酶对药物的亲和力或作用，从而使病毒对药物产生抗药性而能继续增殖。从研究角度也可分析病毒酶的基因编码区，以发现碱基序列的变异与耐药性发生的关系。

二、基因重组与重配

当两种或两种以上病毒感染同一宿主细胞时，它们之间可发生多种形式的相互作用，如干扰现象、共同感染、基因转移与互换、基因产物的相互作用等，但常发生于有近缘关系的病毒或宿主敏感性相似的病毒间。两种病毒感染同一宿主细胞发生基因的交换，产生具有两个亲代特征的子代病毒，并能继续增殖，该变化称为基因重组(gene recombination)，其子代病毒称为重组体(recombinants)。基因重组不仅能发生于两种活病毒之间，也可发生于一种活病毒与另一种灭活病毒之间，甚至发生于两种灭活病毒之间。对于基因分节段的 RNA 病毒，如流感病毒、轮状病毒等，通过交换 RNA 节段而进行基因重组的被称为重配(reassortment)；一般而言，发生重配的几率可高于不分节段的病毒。已灭活的病毒在基因重组中可成为具有感染性的病毒，如经紫外线灭活的病毒与另一近缘的活病毒感染同一宿主细胞时，经基因重组而使灭活病毒复活，称为交叉复活(crossing reactivation)；当两种或两种以上的近缘的灭活病毒(病毒基因组的不同部位受损)感染同一细胞时，经过基因重组而出现感染性的子代病毒，称为多重复活(multiplicity reactivation)。

笔记

三、基因整合

指病毒基因组与宿主细胞基因组的整合。在病毒感染宿主细胞的过程中，有时病毒基因组中DNA片段可插入到宿主染色体DNA中，这种病毒基因组与细胞基因组的重组过程称为基因整合(gene integration)。转导性噬菌体可引起宿主菌基因的普遍转导和局限性转导，溶原性噬菌体可使宿主菌变为溶原状态，这已在细菌遗传学中介绍。多种DNA病毒、逆转录病毒等均有整合宿主细胞染色体的特性，整合既可引起病毒基因的变异，也可引起宿主细胞染色体基因的改变(如出现V-Onc)，导致细胞转化发生肿瘤等。

四、病毒基因产物的相互作用

当两种病毒感染同一细胞时，除可发生基因重组外，也可发生病毒基因产物的相互作用，包括互补、表型混合与核壳转移等，产生子代病毒的表型变异。

1. 互补作用和加强作用 互补作用(complementation)是指两种病毒感染同一细胞时，其中一种病毒的基因产物(如结构蛋白和代谢酶等)促使另一病毒增殖。这种现象可发生于感染性病毒与缺陷病毒或灭活病毒之间，甚至发生于两种缺陷病毒之间的基因产物互补，而产生两种感染性子代病毒。其原因并非是缺陷病毒之间的基因重组，而是两种病毒能相互提供另一缺陷病毒所需的基因产物，例如病毒的衣壳或代谢酶等。

2. 表型混合与核壳转移 病毒增殖过程中，核酸复制与转录，病毒蛋白质的翻译是分别在细胞的不同部位进行，因此有时两株病毒共同感染同一细胞时，一种病毒复制的核酸被另一病毒所编码的蛋白质衣壳或包膜包裹，也会发生诸如耐药性或细胞嗜性等生物学特征的改变，这种改变不是遗传物质的交换，而是基因产物的交换，称表型混合(phenotypic mixing)。表型混合获得的新性状不稳定，经细胞传代后又可恢复为亲代表型。无包膜病毒发生的表型混合称核壳转移(transcapsidation)，如脊髓灰质炎病毒与柯萨奇病毒感染同一细胞时，常发生核壳转移，甚至有两亲代病毒核酸编码的壳粒相互混合组成的衣壳。因此在获得新表型病毒株时，应通过传代来确定病毒新性状的稳定性，以区分是基因重组体还是表型混合。

第五节 理化因素对病毒的影响

病毒受理化因素作用后，失去感染性称为灭活(inactivation)。**灭活的病毒仍能保留其他特性，**如抗原性、红细胞吸附、血凝及细胞融合等。

一、物理因素

1. 温度 大多数病毒耐冷不耐热，在0℃以下的温度，特别是在干冰温度(-70℃)和液态氮温度(-196℃)下，可长期保持其感染性。大多数病毒于50~60℃ 30分钟即被灭活。热对病毒的灭活作用，主要是使病毒衣壳蛋白变性和病毒包膜的糖蛋白刺突发生变化，阻止病毒吸附于宿主细胞。热也能破坏病毒复制所需的酶类，使病毒不能脱壳。

2. 酸碱度 大多数病毒在pH 5~9的范围内比较稳定，而在pH 5.0以下或pH 9.0以上迅速灭活，但不同病毒对pH的耐受能力有很大不同，如在pH 3.0~5.0时肠道病毒稳定，鼻病毒很快被灭活。

3. 射线和紫外线 γ线、X线和紫外线都能使病毒灭活。射线引起核苷酸链发生致死性断裂；紫外线是引起病毒的多核苷酸形成双聚体(如胸腺核苷与尿核苷)，抑制病毒核酸的复制，导致病毒失活。但有些病毒经紫外线灭活后，若再用可见光照射，因激活酶的原因，可使灭活的病毒复活，故不宜用紫外线来制备灭活病毒疫苗。

笔记

二、化学因素

病毒对化学因素的抵抗力一般较细菌强，可能是由于病毒缺乏酶类的原因。

1. 脂溶剂　病毒的包膜含脂质成分，易被乙醚、三氯甲烷、去氧胆酸盐等脂溶剂溶解。因此，包膜病毒进入人体消化道后，即被胆汁破坏。在脂溶剂中，乙醚对病毒包膜破坏作用最大，所以乙醚灭活试验可鉴别有包膜和无包膜病毒。

2. 酚类　酚及其衍生物为蛋白变性剂，故可作为病毒的消毒剂。

3. 氧化剂、卤素及其化合物　病毒对这些化学物质都很敏感。

4. 抗生素与中草药　现有的抗生素对病毒无抑制作用，但可以抑制待检标本中的细菌，有利于分离病毒。近年来研究证明，有些中草药如板蓝根、大青叶、大黄、黄芪和七叶一枝花等对某些病毒有一定的抑制作用。

第六节　病毒的分类

病毒分类的研究历史较短，一般采用一种非系统的、多原则的、分等级的分类法。国际病毒分类委员会（international committee on taxonomy of viruses，ICTV）2011 年公布的病毒分类命名最新报告中将病毒分为 94 个科，22 个亚科，395 个属。

随着病毒学研究的不断深入，尤其是病毒基因和基因组测序研究的推进，**使病毒分类从单一基因水平发展到了全基因组水平。**

病毒分类的依据有：①核酸的类型与结构（DNA 或 RNA、单链或双链、分子量、基因数和全基因组信息）；②病毒体的形状和大小；③衣壳对称性和壳粒数目；④有无包膜；⑤对理化因素的敏感性；⑥抗原性；⑦生物学特性（繁殖方式、宿主范围、传播途径和致病性）（表 22-3，表 22-4）。

表 22-3　DNA 病毒分科及重要病毒

病毒科名	分类的主要特点	主要成员
痘病毒科（Poxviridae）	dsDNA，有包膜	天花病毒，痘苗病毒，猴痘病毒，传染性软疣病毒
疱疹病毒科（Herpesviridae）	dsDNA，有包膜	单纯疱疹病毒Ⅰ型和Ⅱ型，水痘-带状疱疹病毒，EB 病毒，巨细胞病毒，人疱疹病毒 6、7、8 型
腺病毒科（Adenoviridae）	dsDNA，有包膜	腺病毒
嗜肝病毒科（Hepadnaviridae）	dsDNA，复制过程有逆转录	乙型肝炎病毒
乳多空病毒科（Papovaviridae）	dsDNA，环状，无包膜	乳头瘤病毒
小 DNA 病毒科(Parvoviridae)	+ssDNA　无包膜	细小 B19 病毒，腺病毒伴随病毒

表 22-4　RNA 病毒分科及重要病毒

病毒科名	分类的主要特点	主要成员
副黏病毒科（Paramyxoviridae）	- ssRNA，不分节，有包膜	副流感病毒，仙台病毒，麻疹病毒，腮腺炎病毒，呼吸道合胞病毒，偏肺病毒
正黏病毒科（Orthomyxoviridae）	- ssRNA，分节，有包膜	流感病毒 A、B、C 型
逆转录病毒科（Retroviridae）	两条相同的 +ssRNA，不分节，有包膜	HIV，HTLV
小RNA病毒科(Picornaviridae)	+ssRNA，不分节，无包膜	Poliovirus，ECHOV，Coxsackievirus

笔记

续表

病毒科名	分类的主要特点	主要成员
冠状病毒科(Coronaviridae)	+ssRNA,不分节,有包膜	冠状病毒
沙粒病毒科(Arenaviridae)	- ssRNA,分节,有包膜	拉沙热病毒,塔卡里伯病毒群(鸠宁和马秋波病毒),淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒
弹状病毒科(Rhabdoviridae)	- ssRNA,不分节,有包膜	狂犬病病毒,水疱口炎病毒
纤丝病毒科(Filoviridae)	- ssRNA,不分节,有包膜	埃博拉病毒,马堡病毒

自然界中还存在一类比病毒还小、结构更简单的微生物,称为亚病毒(subvirus)。包括类病毒、卫星病毒和朊粒,是一些非寻常病毒的致病因子。

1. 类病毒(viroid) 为植物病毒,是1971年美国Diener等长期研究马铃薯纺锤形块茎后报道命名的,迄今已发现有12种植物病由类病毒引起。**类病毒仅由**250~400**个核苷酸组成**,为单链杆状RNA,有二级结构,无包膜或衣壳,不含蛋白质。在细胞核内增殖,利用宿主细胞的RNA聚合酶Ⅱ进行复制。对核酸酶敏感,对热、有机溶剂有抵抗力。致病机制可能是由于RNA分子直接干扰宿主细胞的核酸代谢。类病毒与人类疾病的关系尚不清楚。

2. 卫星病毒(satellite virus) 是在研究类病毒过程中发现的又一种与植物病害有关的致病因子。卫星病毒可分为两大类,一类可编码自身的衣壳蛋白,另一类为卫星病毒RNA分子,曾称为拟病毒(virusoid),需利用辅助病毒的蛋白衣壳。其特点为由500~2000个核苷酸构成的单链RNA,与缺陷病毒不同,表现为与辅助病毒基因组间无同源性;复制时常干扰辅助病毒的增殖。

有人认为人类的丁型肝炎病毒具有部分卫星病毒和类病毒的特征,是一种特殊的嵌合RNA分子。

3. 朊粒(prion) 近年研究认为将朊粒列入病毒范畴不适宜,其生物学地位尚未确定。具体内容请见朊粒章节。

(李 凡)

笔记

第二十三章　病毒的感染与免疫

第一节　病毒的致病作用

病毒的感染是从病毒侵入宿主开始，其致病作用则主要是通过侵入易感细胞、损伤或改变细胞的功能而引发。病毒感染的结果取决于宿主、病毒和其他影响免疫应答的因素。宿主因素包括：基因背景、免疫状态、年龄以及个体的一般健康状况。病毒因素包括：病毒株、病毒剂量和感染途径等与病毒毒力相关的因素。因此，不同个体感染同一病毒体，其抗感染免疫的结局各异。

一、病毒感染的传播方式

病毒主要通过破损的皮肤、黏膜（眼、呼吸道、消化道或泌尿生殖道）传播，但在特定条件下可直接进入血液循环（如输血、机械损伤、昆虫叮咬等）感染机体。反之，皮肤也是最好的屏障，泪液、黏液、纤毛上皮、胃酸、胆汁等均具有保护作用。**多数病毒以一种途径进入宿主机体，但也可见多途径感染的病毒**，例如人类免疫缺陷病毒（HIV）。

病毒感染的传播方式有**水平传播**（horizontal transmission）和**垂直传播**（vertical infection）两种。水平传播是指病毒在人群不同个体之间的传播，也包括从动物到动物再到人的传播，为大多数病毒的传播方式。垂直传播是指病毒由宿主的亲代传给子代的传播方式，主要通过胎盘或产道传播，也可见其他方式，例如产后哺乳和密切接触感染、病毒基因经生殖细胞的遗传等。多种病毒可经垂直传播引起子代病毒感染，如风疹病毒、巨细胞病毒、HIV 及 HBV 毒等（表 23-1）。

表 23-1　人类病毒的感染途径

主要感染途径	传播方式及途径	病毒种类
呼吸道	空气、飞沫或皮屑	流感病毒、鼻病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、腺病毒及部分 EB 病毒与肠道病毒、水痘病毒等
消化道	污染水或食品	脊髓灰质炎病毒等肠道病毒、轮状病毒、甲肝病毒、戊肝病毒、部分腺病毒
血液	注射、输血或血液制品、器官移植等	HIV、HBV、HCV、CMV 等
眼或泌尿生殖道	接触、游泳池、性交	HIV，疱疹病毒 1、2 型，肠道病毒 70 型，腺病毒，乳头瘤病毒
经胎盘、围生期	宫内、分娩产道、哺乳等	HBV、HIV、CMV、风疹病毒等
破损皮肤	昆虫叮咬、狂犬咬伤、鼠类咬伤	脑炎病毒、出血热病毒、狂犬病病毒等

病毒在机体内呈不同程度的播散，有些病毒只在入侵部位感染细胞局部播散，称局部感染（local infection）或表面感染（superficial infection）；另一些病毒可在入侵局部增殖经血流或神经系统向全身或远离入侵部位的器官播散，称为全身感染（systemic infection）。病毒进入血液称为病毒血症（viremia）。

笔记

二、病毒感染的致病机制

(一) 病毒对宿主细胞的致病作用

1. 杀细胞效应(cytocidal effect) 病毒在宿主细胞内复制完毕,可在很短时间内一次释放大量子代病毒,细胞被裂解而死亡,称为杀细胞性感染(cytocidal infection)。主要见于无包膜、杀伤性强的病毒,如脊髓灰质炎病毒、腺病毒等。其机制是病毒在增殖过程中,阻断细胞核酸与蛋白质的合成,使细胞新陈代谢功能紊乱,造成细胞病变与死亡。某些病毒的衣壳蛋白具有直接杀伤宿主细胞的作用。在病毒的大量复制过程中,细胞核、细胞膜、内质网、线粒体均可被损伤,导致细胞裂解死亡。在体外试验中,通过细胞培养和接种杀细胞性病毒,经一定时间后,可用显微镜观察到细胞变圆、坏死,从瓶壁脱落等现象,称为致**细胞病变作用**(cytopathic effect,CPE)。

病毒的杀细胞效应发生在重要器官,如中枢神经系统,当达到一定程度可引起严重后果,甚至危及生命或造成严重后遗症。

2. 稳定状态感染(steady state infection) 某些病毒进入细胞后能够复制,却不引起细胞立即裂解、死亡,这常常见于有包膜病毒,如流感病毒、疱疹病毒、某些披膜病毒等。病毒以出芽方式释放子代,其过程缓慢,不阻碍细胞的代谢,也不破坏溶酶体膜,因而不会使细胞立即溶解死亡。这些**不具有杀细胞效应的病毒所引起的感染称为稳定性感染**。但感染可引起宿主细胞融合及细胞表面产生新抗原。而且,稳定感染的细胞由于表达了病毒抗原,成为细胞免疫攻击的靶细胞,最终导致感染细胞的死亡。

(1) 细胞融合:某些病毒的酶类或感染细胞释放的溶酶体酶,能使感染细胞膜改变,导致感染细胞与邻近的细胞融合。病毒借助于细胞融合,扩散到未受感染的细胞。**细胞融合是病毒扩散的方式之一**。细胞融合的结果是形成多核巨细胞或合胞体,如麻疹病毒在体内形成华新(Warthin)多核巨细胞。

(2) 细胞表面出现病毒基因编码的抗原:**病毒感染的细胞膜上常出现由病毒基因编码的新抗原**。如流感病毒、副黏病毒在细胞内装配成熟后,以出芽方式释放时,细胞表面形成血凝素,因而能吸附某些动物的红细胞。病毒导致细胞癌变后,因病毒核酸整合到细胞染色体上,细胞表面也表达病毒特异性新抗原,使宿主细胞成为靶细胞,最终受细胞免疫作用而死亡。此外,还有因感染病毒引起细胞表面抗原决定簇的变化,暴露了在正常情况下隐蔽的抗原决定簇。

3. 包涵体形成 某些受病毒感染的细胞内,用普通光学显微镜可看到有与正常细胞结构和着色不同的圆形或椭圆形斑块,称为**包涵体**(inclusion body)。有的位于胞质内(痘病毒),有的位于胞核中(疱疹病毒),或两者都有(麻疹病毒);包涵体有嗜酸性的或嗜碱性的,因病毒种类而异。其本质是:①有些病毒的包涵体就是病毒颗粒的聚集体;②有些是病毒增殖留下的痕迹;③或病毒感染引起的细胞反应物。因包涵体与病毒的增殖、存在有关,而且各具有本病毒的特征,故可作为诊断依据。如从可疑狂犬病的脑组织切片或涂片中发现细胞内有嗜酸性包涵体,即**内基小体**(Negri body),可诊断为狂犬病。

4. 细胞凋亡(apoptosis) 病毒感染可导致宿主细胞发生凋亡,这一过程可能促进细胞中病毒释放,但是它也限制了细胞生产的病毒体的数量。

5. 基因整合与细胞转化 某些 DNA 病毒和逆转录病毒在感染中可将基因整合于宿主细胞基因组中。一种是逆转录 RNA 病毒先以 RNA 为模板逆转录合成 cDNA,再以 cDNA 为模板合成双链 DNA,此双链 DNA 全部整合于细胞染色体 DNA 中;另一种是 DNA 病毒在复制中,可将部分 DNA 片段随机整合于细胞染色体 DNA 中。两种整合方式均可**导致细胞转化,增殖变快,失去细胞间接触抑制**,细胞转化也可由病毒蛋白诱导发生。基因整合或其他机制引起的**细胞转化与肿瘤形成密切相关**。

笔记

（二）病毒感染的免疫病理作用

病毒在感染损伤宿主的过程中，通过与免疫系统相互作用，诱发免疫应答损伤机体是重要的致病机制之一。目前虽有不少病毒的致病作用及发病机制不明了，但通过免疫应答所致的损伤在病毒感染性疾病中的作用越发显得重要，尤其是持续性病毒感染及与病毒感染有关的自身免疫性疾病。免疫病理损伤机制包括特异性体液免疫和特异性细胞免疫。一种病毒感染可能诱发一种发病机制，也可能两种机制并存。有些还可能存在非特异性免疫机制引起的损伤。

1. 抗体介导的免疫病理作用　病毒的包膜蛋白、衣壳蛋白均为良好的抗原，能刺激机体产生相应抗体，抗体与抗原结合可阻止病毒扩散导致病毒被清除。然而感染后许多病毒抗原可出现于宿主细胞表面，与抗体结合后，激活补体，导致宿主细胞破坏，属Ⅱ型超敏反应。

抗体介导损伤的另一机制是抗原抗体复合物引起的Ⅲ型超敏反应。病毒抗原与抗体形成的复合物可经常出现于血液循环中，若沉积在任何部位均可导致损伤。慢性病毒性肝炎患者常出现关节症状，与免疫复合物沉积于关节滑膜引起关节炎有关。若发生在肺部，引起细支气管炎和肺炎，如婴儿呼吸道合胞病毒感染。登革病毒的复合物可沉积于血管壁，激活补体使血管通透性增高，引起出血和休克。

2. 细胞介导的免疫病理作用　适应性细胞免疫是宿主清除胞内病毒的重要机制。细胞毒性 T 细胞（CTL）对靶细胞膜病毒抗原识别后引起的杀伤，能终止细胞内病毒复制，对感染的恢复起关键作用。但细胞免疫也损伤宿主细胞，造成功能紊乱，这可能是病毒致病机制中的一个重要方面，属Ⅳ型超敏反应。

另外，通过对 DNA 病毒和 RNA 的病毒蛋白基因序列分析，发现有些病毒蛋白与宿主蛋白存在共同抗原决定簇。慢性病毒性肝炎、麻疹病毒和腮腺炎病毒感染后脑炎等疾病的发病机制可能与针对自身抗原的细胞免疫有关。

3. 致炎性细胞因子的病理作用　INF-γ、TNF-α、IL-1 等细胞因子的大量产生将导致代谢紊乱，并活化血管活化因子，引起休克、弥散性血管内凝血（DIC）、恶病质等严重病理过程，甚至危及生命。

4. 免疫抑制作用　**某些病毒感染可抑制免疫功能**，其作用机制是病毒可主动抑制宿主的免疫应答，如导致高亲和力 T 细胞的清除，诱导部分耐受；破坏抗原提呈细胞；抑制效应细胞的功能等。常见的病毒有麻疹病毒、风疹病毒、巨细胞病毒及 HIV 等。病毒感染所致的免疫抑制可激活体内潜伏的病毒或促进某些肿瘤的生长，使疾病复杂化，亦可能成为病毒持续性感染的原因之一。

（三）病毒的免疫逃逸

病毒性疾病除与病毒的直接作用及引起免疫病理损伤有关外，也与病毒的免疫逃逸（viral mechanisms of escape of immune responses）能力相关。病毒可能通过逃避免疫防御、防止免疫激活或阻止免疫应答的发生等方式来逃脱免疫应答。有些病毒通过编码抑制免疫应答的蛋白质实现免疫逃逸，有些病毒形成合胞体让病毒在细胞间传播逃避抗体作用。常见病毒的免疫逃逸机制见表 23-2。

表 23-2　病毒免疫逃逸机制

免疫逃逸机制	病毒举例及作用方式
细胞内寄生	所有病毒皆为严格细胞内寄生，通过逃避抗体、补体及药物作用而发挥逃避免疫机制的作用
抗原变异	HIV、甲型流感病毒高频率的抗原变异使得免疫应答滞后
抗原结构复杂	鼻病毒、柯萨奇病毒、ECHO 病毒等型别多，抗原多态性致使免疫应答不力
损伤免疫细胞	HIV、EB 病毒、麻疹病毒等可在 T 或 B 细胞内寄生并导致宿主细胞死亡

笔记

续表

免疫逃逸机制	病毒举例及作用方式
降低抗原表达	腺病毒、巨细胞病毒可抑制 MHC- Ⅰ转录、表达
病毒的免疫增强作用	登革病毒以及其他黄病毒再次感染，因机体内预先存在或经胎盘获得中和抗体能促进游离的病毒进入单核细胞内，并大量增殖，导致病毒血症及病毒 - 抗体复合物形成，继之大量细胞因子及血管活性因子释放，导致登革休克综合征

三、病毒感染的类型

根据有无临床症状，病毒感染可分为隐性感染和显性感染；根据病毒在机体内感染的过程及滞留的时间，病毒感染可分为急性感染和持续性感染。持续性感染又可分为潜伏感染、慢性感染、慢发病毒感染。

（一）隐性感染和显性感染

1. 隐性病毒感染（inapparent viral infection） **病毒进入机体不引起临床症状的感染称隐性感染或亚临床感染**（subclinical viral infection），可能与病毒毒力弱或机体防御能力强、病毒在体内不能大量增殖，因而对组织细胞的损伤不明显有关；也可能与病毒种类和性质有关，病毒侵犯后不能到达靶细胞，故不表现出临床症状。

隐性感染者虽不出现临床症状，但仍可获得免疫力而终止感染。部分隐性感染者一直不产生免疫力，这种隐性感染者也称为**病毒携带者**（viral carrier）。病毒携带者本身无症状，但病毒可在体内增殖并向外界排泄播散，成为**重要的传染源**，在流行病学上具有十分的重要意义。

2. 显性病毒感染（apparent viral infection） **病毒感染后出现临床症状和体征，称为显性感染或临床感染**（clinical infection）。有些病毒可造成多数感染者发病，如天花病毒、麻疹病毒；也有些病毒感染后只有极少数人发病，大多数感染者呈隐性感染，如脊髓灰质炎病毒、流行性乙型脑炎病毒。这是由机体抵抗力、入侵病毒的毒力和数量所决定的。某些病毒的显性感染发病率见表 23-3。

表 23-3 各种主要病毒感染的发病（显性感染）率

病毒	发病（显性感染）率
天花病毒、麻疹病毒、VZV	~100%
流感病毒	甲型和新亚型流感病毒发病率高
腮腺炎病毒	~80%
风疹病毒	60%~70%
狂犬病病毒	30%~100%
HSV	潜伏感染
HIV	10%~15%
EBV	~10% 初感染年龄组
HAV	~5%
HBV	2%~3%
脊髓灰质炎病毒	1%
流行性乙型脑炎病毒	0.33%

（二）急性病毒感染

急性病毒感染（acute viral infection）也称为**病原消灭型感染**，病毒侵入机体后，在细胞内增殖，

笔记

经数日乃至数周的潜伏期后发病。在潜伏期内病毒增殖到一定水平，导致靶细胞损伤和死亡而造成组织器官损伤和功能障碍，出现临床症状。但从潜伏期起，宿主即动员固有免疫和适应性免疫机制清除病毒。除死亡病例外，宿主一般能在出现症状后的一段时间内，将病毒清除掉而进入恢复期。其特点为潜伏期短，发病急，病程数日至数周，病后常获得适应性免疫。因此，特异性抗体可作为受过感染的证据。

（三）持续性病毒感染

病毒可在机体持续存在数月至数年，甚至数十年。可出现症状，也可不出现症状而长期携带病毒，成为重要的传染源，如 HIV、HBV 等。形成持续性病毒感染（persistent viral infection）有病毒和机体两方面的因素：①机体免疫功能弱，无力完全清除病毒，病毒在体内可长期存留；②病毒存在于受保护的部位，可逃避宿主的免疫作用；③某些病毒的抗原性太弱，机体难以产生免疫应答将其清除；④有些病毒在感染过程中产生缺损性干扰颗粒，干扰病毒增殖，因而改变了病毒感染过程，形成持续性感染；⑤病毒基因整合在宿主细胞的基因组中，长期与宿主细胞共存。

持续性感染有下述 3 种类型：

1. 潜伏感染（latent infection）　某些病毒在显性或隐性感染后，病毒基因存在细胞内，有的病毒潜伏于某些组织器官内而不复制。但在一定条件下，病毒被激活又开始复制，使疾病复发。在显性感染时，可查到病毒的存在，而在潜伏期查不出病毒。疱疹病毒属的全部病毒（HSV、带状疱疹病毒、巨细胞病毒、EB 病毒和人疱疹病毒 6 型）均可引起潜伏感染。**凡使机体免疫力下降的因素均可激活这些潜伏的病毒使感染复发**。例如艾滋病患者、晚期肿瘤病患者、放射及免疫抑制剂治疗者，以及外界气候变化、生理周期变化等均可能激活潜伏病毒。唇疱疹是由 HSV-1 从潜伏的三叉神经节沿感觉神经到达口唇皮肤与黏膜交界处的细胞增殖所致；带状疱疹是因儿童时期感染了水痘病毒，病愈后病毒潜伏于脊髓后根神经节或脑神经节，可在数十年后的老年期同一部位复发；病愈后病毒又回到潜伏部位。

2. 慢性感染（chronic infection）　病毒在显性或隐性感染后未完全清除，血中可持续检测出病毒，因而可经输血、注射而传播。患者可表现轻微或无临床症状，但常反复发作，迁延不愈，例如乙型肝炎、丙型肝炎。

3. 慢发病毒感染（slow virus infection）　指显性或隐性感染后，病毒有很长的潜伏期，可达数月，数年甚至数十年。在症状出现后呈进行性加重，最终导致死亡。**为慢性发展进行性加重的病毒感染，较为少见但后果严重**。如 HIV 引起的艾滋病、麻疹病毒引起的亚急性硬化性全脑炎（subacute sclerosing panencephalitis，SSPE）、狂犬病及朊粒感染引起的疾病等。

四、病毒与肿瘤

大量的研究资料表明，许多**病毒与人类肿瘤发生有着密切联系**。病毒与肿瘤的关系可分为两种：一种是已经肯定的，即肿瘤由病毒感染所致；另一种是密切相关，但尚未获肯定。属于前一种关系的包括人乳头瘤病毒引起的人疣（乳头瘤），为良性肿瘤，以及人类嗜 T 细胞病毒所致的人 T 细胞白血病，为恶性肿瘤；属于后一种情况的包括 HBV、HCV 与原发性肝癌的关系，EB 病毒与鼻咽癌和淋巴瘤的关系，人乳头瘤病毒、HSV-2 与宫颈癌的关系，以及人疱疹病毒 -8（卡波西肉瘤相关病毒）与卡波西肉瘤的关系等。

病毒作为肿瘤发生的诱导剂，它的潜在能力变化范围很大。在所有被病毒感染的动物中，使细胞转化效率最高的逆转录病毒能在数天内引起肿瘤生长，而其他的大部分病毒则需要更长的潜伏期，并且仅是小部分被感染的宿主最终发展出现由病毒引起的恶性肿瘤，所有与病毒感染相关的人类肿瘤都属于后面这种类型。肿瘤形成不是病毒感染的必然结果，而是与其作用的步骤相关，每一步骤可不断扩大细胞生长去调节作用。在细胞培养中，病毒能使细胞转化成为完全的致癌表型（oncogenic phenotype），呈现出已改变肿瘤细胞的所有特征，而且还具有在敏感

笔记

动物中引起肿瘤的能力。但也可见另一些实例，即培养的细胞仅发生部分转化，不具有在体内的致瘤作用。还有一些病毒可间接促使肿瘤形成，如 HBV 和 HCV 这两种病毒引发肿瘤需要病毒的持续感染和有效的组织修补，肝细胞生长和修复的刺激促进了肝肿瘤的形成。

第二节 抗病毒免疫

由于病毒的生物学性状特殊，且与宿主细胞关系极为密切，抗病毒免疫除具抗菌免疫的共性外，还有其特殊性（表 23-4）。

表 23-4 抗病毒免疫机制

免疫因素	免疫机制
巨噬细胞	可滤过血液中病毒颗粒，使被调理的病毒颗粒灭活，将病毒抗原提呈给 T 细胞
IFN	诱导细胞产生抗病毒蛋白，抑制病毒复制，在病毒感染早期起作用
NK 细胞	释放 TNF-α、TNF-β 和 IFN-γ，非特异性杀伤病毒感染的靶细胞，在感染早期发挥作用
抗体	中和抗体能阻止病毒吸附，有调理作用，主要对细胞外游离的病毒起作用
T 细胞	其中 Th1 细胞反应比 Th2 更重要。CTL 能同靶细胞表面的病毒抗原反应，杀伤靶细胞，清除细胞内病毒

一、固有免疫

抗病毒固有免疫是针对病毒感染的第一道防线。干扰素、细胞因子、巨噬细胞和 NK 细胞等因素，均针对病毒的进入迅速发生反应，并且激活适应性免疫防御系统。通常固有免疫防御可控制病毒感染，防止临床症状出现。其中，干扰素、巨噬细胞和 NK 细胞起主要作用。

（一）干扰素

干扰素（interferon，IFN）是病毒或其他干扰素诱生剂刺激人或动物细胞所产生的一种糖蛋白，具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节等多种生物学活性。除病毒外，细菌内毒素、人工合成的双链 RNA 等诱生剂也可诱导干扰素的产生。巨噬细胞、淋巴细胞及体细胞均可产生干扰素。干扰素**具有广谱抗病毒作用**，但**只能抑制病毒而无杀灭病毒的作用**。干扰素抗病毒作用**有相对的种属特异性**，一般在同种细胞中活性最高，对异种细胞无活性。

1. 种类与性质 由人类细胞诱生的干扰素，根据其不同的抗原性分为 α、β 和 γ 三种；每种又根据其氨基酸序列不同分若干亚型。IFN-α 主要由人白细胞产生，IFN-β 主要由人成纤维细胞产生，两者均属于Ⅰ型干扰素，抗病毒作用强于免疫调节作用。IFN-γ 由 T 细胞和 NK 细胞产生，也称免疫干扰素，属Ⅱ型干扰素，其免疫调节作用强于抗病毒作用。IFN-γ 亦称为巨噬细胞活化因子，是 Th1 反应的组分之一。编码产生人 IFN 的基因分别位于第 9 对染色体的短臂（IFN-α、IFN-β）以及第 12 对染色体的长臂上（IFN-γ）。目前上市的三种干扰素均为基因工程产品。

干扰素分子量小，对热比较稳定，4℃可保存较长时间，-20℃可长期保存活性，56℃被灭活；可被蛋白酶破坏。干扰素有抗原性，在使用干扰素治疗期间，机体可能针对其产生干扰素抗体。干扰素抗体的形成可能会影响干扰素的生物学活性。

2. 抗病毒活性 **干扰素不能直接灭活病毒，而是通过诱导细胞合成抗病毒蛋白**（antiviral protein，AVP）**发挥效应**。干扰素首先与敏感细胞表面的干扰素受体结合，触发信号传递等一系列的生物化学过程，激活细胞内基因合成多种 AVP 从而实现对病毒的抑制作用。AVP 主要有 2′，5′-腺嘌呤核苷合成酶（2′，5′-A 合成酶）和蛋白激酶（protein kinase R，PKR）等。其作用机制

笔记

有 2′,5′ –A 合成酶途径和 PKR 途径，两种途径的激活都需要病毒中间产物双链 RNA（dsRNA）的存在（图 23–1）。除上述两种主要的 AVP 外，干扰素尚可诱导细胞产生其他种类的 AVP，不同的干扰素诱导蛋白（抗病毒蛋白）介导不同的抗病毒机制。

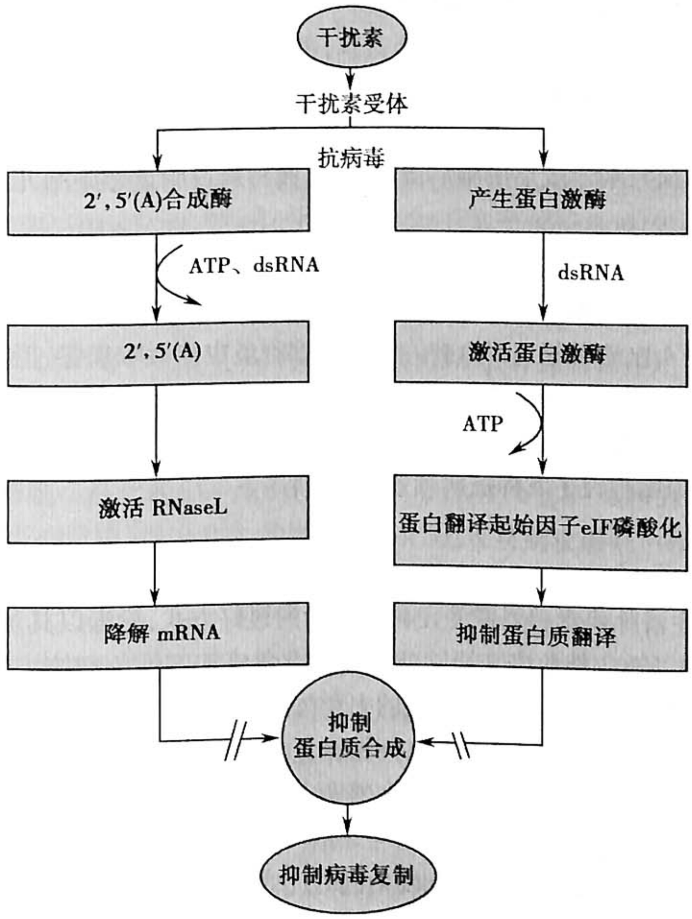


图 23–1　干扰素抑制病毒蛋白翻译的两种途径

（1）2′,5′ –A 合成酶途径：2′,5′ –A 合成酶可导致病毒 mRNA 的降解。其作用机制是：①由 dsRNA 激活 2′,5′ –A 合成酶，使 ATP 多聚化，形成不定长度的寡聚腺苷酸（2′,5′ –A）；② 2′,5′ –A 再活化 RNA 酶 L（RNaseL）；③活化的 RNaseL 可切断病毒 mRNA。

（2）PKR 途径：PKR 使蛋白翻译起始因子 eIF 磷酸化而失去活性。其作用机制是：① PKR 在 dsRNA 存在下产生自身磷酸化而被激活；②活化的 PKR 作用于翻译起始因子 eIF 的 α 亚基，使之磷酸化；③磷酸化后的 eIF 失去启动蛋白质翻译过程的能力，病毒多肽链的合成受阻。

干扰素发挥作用迅速，在感染的几小时内就能起作用，抗病毒状态可持续 2~3 天。IFN 合成后很快释放到细胞外，扩散至邻近细胞发挥抗病毒作用。因此干扰素既能中断受感染细胞的病毒感染，又能限制病毒扩散。在感染的起始阶段即适应性免疫发生作用之前，干扰素发挥重要作用。干扰素的抗病毒作用具有广谱性，这是因为**抗病毒蛋白是一种酶类，作用无特异性**。理论上讲，干扰素对多数病毒均有一定抑制作用。但近年来，已发现许多病毒已形成了一些较为复杂的机制来对抗或逃避干扰素的抗病毒作用。有效的治疗方法要求正确使用干扰素的亚型和它在适当浓度下的迅速释放。

3. 免疫调节及抗肿瘤活性　干扰素还具有免疫调节作用，其中 IFN-γ 尤为重要。包括激活巨噬细胞，活化 NK 细胞，促进细胞 MHC 抗原的表达，增强淋巴细胞对靶细胞的杀伤等。此外，干扰素还能直接抑制肿瘤细胞的生长，被用于某些癌症的治疗中。但是，干扰素治疗有流感病毒样副作用，譬如冷战、发热和疲劳。

笔记

(二) 先天不感受性

主要取决于细胞膜上有无病毒受体。机体的遗传因素决定了种属和个体对病毒感染的差异。如有些动物病毒不能使人感染;也有些人类病毒不能进入动物细胞内增殖,如脊髓灰质炎及麻疹病毒,因为动物细胞膜上无相应的受体而不被感染。

(三) 屏障作用

血脑屏障能阻挡病毒经血流进入中枢神经系统。胎盘屏障保护胎儿免受母体所感染病毒的侵害,但其屏障的保护作用与妊娠时期有关。妊娠 3 个月以内,胎盘屏障尚未发育完善。在此期间,孕妇若感染风疹病毒或巨细胞病毒(CMV),极易通过胎盘感染胎儿,引起先天性畸形或流产。

(四) 细胞作用

巨噬细胞(macrophage,Mϕ)对阻止病毒感染和促使病毒感染的恢复具有重要作用。如果 Mϕ 受损,病毒易侵入血流引起病毒血症。中性粒细胞虽也能吞噬病毒,但不能将其杀灭,病毒在其中还能增殖,反而将病毒带到全身,引起扩散。NK 细胞能杀伤许多病毒感染的靶细胞,是抗病毒感染中主要的固有免疫杀伤细胞,IFN-γ 可增强其活性,活化的 NK 细胞还可通过释放 TNF-α 或 IFN-γ 等细胞因子发挥抗病毒效应。

二、适应性免疫

免疫应答是宿主清除病毒感染或防止再次感染的最好方式,病毒以其毒力及免疫逃避机制危害机体,而机体则以适应性免疫来清除病毒。体液免疫和细胞免疫的抗病毒作用都很重要。一般说来,体液免疫主要是存在于黏膜表面的中和抗体(sIgA)或血流中的中和抗体(IgM、IgG),可以清除血流中病毒并有效防止再次感染;而细胞免疫主要是 CTL 对靶细胞的杀伤和活化的吞噬细胞对病毒的有效杀灭,是促进机体从初次感染中恢复的主要因素。

病毒感染过程中,病毒的各种结构蛋白和非结构蛋白可经抗原的加工与递呈,活化 T 细胞及 B 细胞,诱生体液及细胞免疫。细胞免疫中的 CTL 能杀伤病毒感染的靶细胞,阻断病毒在细胞内复制,是终止病毒感染的主要免疫机制。活化 T 细胞所分泌的多种细胞因子如 IFN-γ、TNF 等也对清除病毒有利。

(一) 体液免疫

抗体可清除细胞外的病毒,并可有效抑制病毒通过病毒血症向靶组织扩散。中和性抗体可中和游离的病毒体,主要对再次入侵的病毒体有预防作用。抗体(包括中和抗体和非中和抗体)也可通过调理作用增强吞噬细胞吞噬杀灭病毒的能力。

1. 中和抗体(neutralizing antibody) 指针对病毒某些表面抗原的抗体。此类抗体**能与细胞外游离的病毒结合从而消除病毒的感染能力**。其作用机制主要是**直接封闭与细胞受体结合的病毒抗原表位**,或**改变病毒表面构型,阻止病毒吸附、侵入易感细胞**。**中和抗体不能直接灭活病毒**。病毒与中和抗体形成的免疫复合物,可被巨噬细胞吞噬清除。有包膜的病毒与中和抗体结合后,可通过激活补体导致病毒裂解。

IgG、IgM、IgA 三类免疫球蛋白都有中和抗体的活性,但特性不同。IgG 分子量小,是唯一能通过胎盘的抗体,在体液中含量最高。一般出生后 6 个月以内的婴儿,由于保留来自母体的 IgG 抗体,较少患病毒性传染病。IgM 分子量大,不能通过胎盘;如在新生儿血中测得特异性 IgM 抗体,提示有宫内感染。IgM 也是最早产生的抗体,故检查 IgM 抗体可作早期诊断。分泌型 IgA(sIgA)存在于黏膜分泌液中,是参与黏膜局部免疫的主要抗体,可阻止病毒经局部黏膜入侵。新近发现,sIgA 可进入细胞内,结合细胞内感染的病毒,发挥细胞内中和作用。

2. 血凝抑制抗体(haemagglutination inhibition antibodies) 表面含有血凝素的病毒可刺激机体产生抑制血凝现象的抗体。检测该类抗体有助于血清学诊断。

笔记

3. 补体结合抗体(complement fixation antibodies)　此类抗体由病毒内部抗原或病毒表面非中和抗原所诱发,不能中和病毒的感染性,但可通过调理作用增强巨噬细胞的吞噬作用。可协助诊断某些病毒性疾病。

(二) 细胞免疫

细胞免疫在抗病毒感染中起着重要作用,可从各种先天性免疫异常患者对病毒感染的抵抗力的差异加以证实。构成病毒适应性细胞免疫应答的主要效应因素是 $CD8^+$ 细胞毒性 T 细胞(CTL)和 $CD4^+$ 辅助性细胞(Th1)。

1. CTL　CTL 可通过其抗原受体识别病毒感染的靶细胞,通过细胞裂解和细胞凋亡两种机制,直接杀伤靶细胞。$CD8^+$ CTL 受 MHCI 类分子限制,是发挥细胞毒作用的主要细胞。在多数病毒感染中,因 CTL 可杀伤靶细胞达到清除或释放在细胞内复制的病毒体,从而在抗体的配合下清除病毒,因此被认为是终止病毒感染的主要机制。CTL 还可通过分泌多种细胞因子,如 IFN-γ、TNF 等发挥抗病毒作用。个别病毒感染后 CTL 虽有抗病毒作用,但并未发生靶细胞破坏的现象,此种非溶细胞性 T 细胞的作用,在神经系统病毒感染,以及 HBV 持续感染中已被证实。

2. $CD4^+$ Th1 细胞　活化的 Th1 细胞释放 IFN-γ,TNF 等多种细胞因子,通过激活巨噬细胞和 NK 细胞,诱发炎症反应,促进 CTL 的增殖和分化等,在抗病毒感染中起重要作用。

三、抗病毒免疫持续时间

抗病毒免疫持续时间的长短在各种病毒之间差异很大,但一般来讲具有以下特点:

1. 有病毒血症的全身性病毒感染由于病毒抗原能与免疫系统广泛接触,病后往往免疫较为牢固,且持续时间较长,如水痘、天花、腮腺炎、麻疹、脊髓灰质炎病毒等。另一类病毒感染往往只局限于局部或黏膜表面,无病毒血症,这类病毒常引起短暂的免疫,宿主可多次感染。如可引起普通感冒的鼻病毒等。

2. 只有单一血清型的病毒感染病后有牢固性免疫,持续时间长,如乙型脑炎病毒。而鼻病毒则因血清型别多(已有 100 多个血清型),通过感染所建立的免疫对其他型病毒无免疫作用。

3. 易发生抗原变异的病毒感染病后只产生短暂免疫力。例如,流感病毒表面抗原发生变异后,由于人群对变异病毒无免疫力,易引起流感的流行。

(李　凡)

笔记

第二十四章　病毒感染的检查方法与防治原则

病毒性疾病在人类疾病中占有十分重要的地位。病毒是非细胞型微生物，病毒感染性疾病的治疗不同于细菌等其他微生物，正确的病原学诊断不但有助于指导临床治疗，而且可为控制病毒性疾病的流行提供实验室依据。

病毒性疾病的防治分为特异性防治和非特异性防治，前者包括**接种疫苗**、注射抗体、细胞免疫制剂，后者包括使用**抗病毒药物**等。它们的应用对控制病毒性疾病的流行起到了重要的作用。

第一节　病毒感染的检查方法

目前常用的病毒感染的微生物学检查程序主要包括**标本的采集与送检、病毒的分离鉴定以及病毒感染的诊断**。随着分子病毒学的发展，不断建立的新型快速诊断方法，极大地提高了病毒性感染的诊断水平。

一、标本的采集与送检

病毒标本的采集与送检原则与细菌的基本相似，但还要特别注意下列原则：

1. 采集急性期标本　用于分离病毒或检测病毒及其核酸的标本应采集患者急性期标本，以提高检出阳性率。

2. 使用抗生素　对本身带有其他微生物（如咽拭子、粪便）或易受污染的标本，进行病毒分离培养时，应使用抗生素以抑制标本中的细菌或真菌等生长繁殖。

3. 冷藏保存、快速送检　因病毒在室温中易失去活性，故所采集的标本应低温保存并尽快送检。如需较长时间运送，应将标本置于装有冰块或维持低温的材料（如固态二氧化碳、低温凝胶袋等）的保温容器内冷藏。病变组织可置含抗生素的50%甘油缓冲盐水中低温保存。不能立即检查的标本，应置于–70℃保存。

4. 采集双份血清　血清学诊断标本的采取应在发病初期和病后2~3周内各取1份血清，以利于动态观察双份血清抗体效价。

二、病毒的分离与鉴定

由于病毒具有严格的细胞内寄生性，故应根据病毒的种类选用相应的组织细胞、鸡胚或敏感动物进行病毒的分离与鉴定，这是病毒病原学诊断的金标准。但因其方法复杂、要求严格且需较长时间，故不适合临床诊断，只适用于病毒的实验室研究或流行病学调查。一般在下述情况进行病毒的分离与鉴定：①需对疾病进行病原学的鉴别诊断；②发现新的病毒性疾病或再发性病毒性疾病；③对治疗疾病有指导性意义（尤其病程较长者）；④监测病毒减毒活疫苗效果（如及时发现回复毒力的变异株等）；⑤病毒性疾病的流行病学调查；⑥病毒生物学性状等的研究。

（一）病毒的分离培养

1. 动物接种　是最早的病毒分离方法，目前用得不多。可根据病毒的亲嗜性选择敏感动物及其适宜的接种部位，观察动物的发病情况，进行血清学检测，测定ID_{50}和LD_{50}等。该方法简便，实验结果易观察，对某些尚无敏感的细胞进行培养的病毒，该方法仍在沿用。但动物对许多人类病毒不敏感，或感染后症状不明显，而且动物体内常带有潜在病毒，应防止将这些潜在病毒误作接种的病原体。

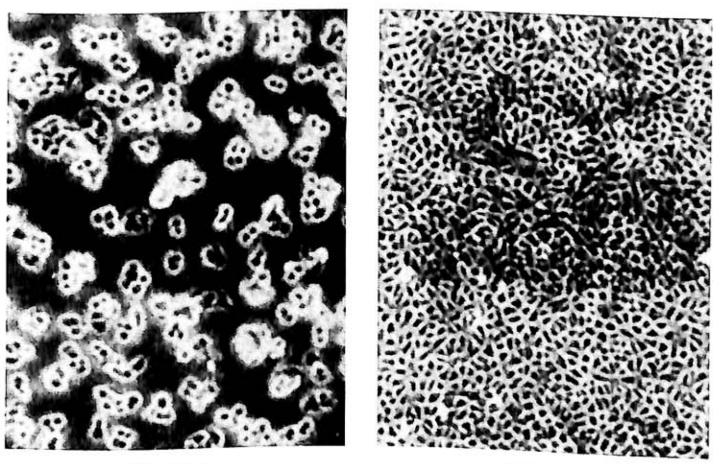
笔记

2. 鸡胚培养　鸡胚对多种病毒敏感，通常选用孵化9~14天的鸡胚(embryonated eggs)，按病毒接种部位分为：①绒毛尿囊膜接种(allantochorion inoculation)，用于培养天花病毒、痘苗病毒及人类疱疹病毒等；②尿囊腔接种(allantoic cavity inoculation)，用于培养流感病毒及腮腺炎病毒等；③羊膜腔接种(amniotic cavity inoculation)，用于流感病毒的初次分离培养；④卵黄囊接种(yolk sac inoculation)，用于某些嗜神经病毒的培养。因鸡胚对流感病毒最敏感，故目前除分离流感病毒还继续选用外，其他病毒的分离基本已被细胞培养所取代。

3. 细胞培养　细胞培养法为病毒分离鉴定中最常用的方法。可根据细胞生长的方式分为**单层细胞培养**(monolayer cell culture)和**悬浮细胞培养**(suspended cell culture)。从细胞的来源、染色体特征及传代次数等可分为：①**原代细胞**(primary cell)，来源于动物、鸡胚或引产人胚组织的细胞(如人胚肾细胞等)，对多种病毒敏感性高，但来源困难。②**二倍体细胞**(diploid cell)，指细胞在体外分裂50~100代后仍保持2倍染色体数目的单层细胞。但经多次传代也会出现细胞老化，以至停止分裂。常用的二倍体细胞株有来自人胚肺的WI-26与WI-38株等，用于人类病毒的分离或病毒疫苗生产。③**传代细胞系**(continuous cell line)，由肿瘤细胞或二倍体细胞突变而来，能在体外持续传代，对病毒的敏感性稳定，因而被广泛应用。但不能用来源于肿瘤的传代细胞生产疫苗。

病毒在培养细胞中增殖的指征：

(1) **细胞病变**(cytopathy)：部分病毒在敏感细胞内增殖时可引起特有的细胞病变，称为致细胞病变作用(CPE)。CPE在未固定、未染色时，用低倍显微镜即可观察到，可作为病毒增殖的指标。常见的病变有细胞变圆、胞质颗粒增多、聚集、融合、坏死、溶解或脱落，形成包涵体等(图24-1)，不同病毒的CPE特征不同，如腺病毒可引起细胞圆缩、团聚或呈葡萄串状；副黏病毒、巨细胞病毒、呼吸道合胞病毒等可引起细胞融合，形成多核巨细胞或称融合细胞等。



病变细胞　　正常细胞

图24-1　病毒所致细胞病变(×40)

(2) **红细胞吸附**(hemadsorption)：带有血凝素的病毒(如流感病毒)感染细胞后，细胞膜上可出现**血凝素**(hemagglutinin)，能与加入的脊椎动物(豚鼠、鸡、猴等)的红细胞结合，此现象称红细胞吸附，常用作含有血凝素的正黏病毒与副黏病毒等的增殖指标。若有相应的抗血清，则能中和细胞膜上的血凝素，阻断红细胞吸附的形成，称红细胞吸附抑制试验。

(3) **病毒干扰作用**(viral interference)：某些病毒感染细胞后不出现CPE，但能干扰在其后感染同一细胞的另一病毒的增殖，从而阻抑后者所特有的CPE。据此，可用不能产生CPE的病毒干扰随后接种且可产生CPE的病毒，以检测病毒的存在。如埃可病毒11型和风疹病毒均可感染猴肾细胞，前者单独感染可引起CPE，后者不能引起CPE，但可抑制随后接种的埃可病毒11型在细胞中的增殖，故可用于风疹病毒的检测。此方法因缺乏特异性而已被免疫学等方法所代替。

笔记

(4) 细胞代谢的改变：病毒感染细胞可使培养液的 pH 改变，说明细胞的代谢在病毒感染后发生了变化。这种培养环境的生化改变也可作为判断病毒增殖的指征。

(二) 病毒的鉴定

1. 病毒形态学鉴定 可应用电子显微镜进行病毒形态观察和病毒大小的测定 。

2. 病毒血清学鉴定 即用已知抗体对病毒进行种、型和亚型的血清学鉴定。方法除常用的免疫标记法外，还有血凝抑制试验等。

3. 病毒分子生物学鉴定 其方法主要包括核酸扩增、核酸杂交、基因芯片、基因测序等分子生物学技术。

对于新分离出的未知病毒，尚需增加下列程序以便做出准确鉴定：①核酸类型的测定：用 RNA 酶及 DNA 酶，可鉴别出病毒核酸类型。此外，DNA 病毒受 5- 氟尿嘧啶的抑制，而 RNA 病毒不受影响。用此方法亦可区分 DNA 与 RNA 病毒；②理化性状的检测：包括病毒颗粒的大小及结构、衣壳对称类型、有无包膜等；③基因测序和生物对比等。

(三) 病毒数量与感染性测定

对于已增殖的病毒，必须进行感染性和数量的测定。在单位体积中测定感染性病毒的数量称为滴定。常用的方法有：

1. 50% 组织细胞感染量(50% tissue culture infectious dose，$TCID_{50}$) **测定** 将待测病毒液进行 10 倍系列稀释，分别接种于单层细胞，经培养后观察 CPE 等病毒增殖指标，以感染 50% 细胞的最高病毒稀释度为判定终点，经统计学处理计算出 $TCID_{50}$。此方法是以 CPE 作指标，判断病毒的感染性和毒力。

2. 红细胞凝集试验(red cell agglutination test) 亦称**血凝试验**。将含有血凝素的病毒接种鸡胚或感染细胞后，收集其鸡胚羊膜腔液、尿囊液或细胞培养液，加入动物红细胞后可出现红细胞凝集。如将病毒悬液做不同稀释度，以血凝反应的最高稀释度作为血凝效价，可半定量检测病毒颗粒的含量。

3. 空斑形成试验(plaque formation test) 将适当稀释浓度的病毒液定量接种于敏感的单层细胞中，经一定时间培养后，覆盖薄层未凝固的琼脂于细胞上，待其凝固后继续培养，由于病毒的增殖使感染的单层细胞病变脱落，可形成肉眼可见的空斑，一个空斑即一个**空斑形成单位**(plaque formatting unit，PFU)，通常由一个感染病毒增殖所致，计数平板中空斑数可推算出样品中**活病毒**的数量，通常以 PFU/ml 表示。

三、病毒感染的诊断

病毒感染的诊断非常复杂，常用方法可分为形态学检查、病毒成分检测和血清学诊断。

(一) 形态学检查

1. 电镜和免疫电镜检查 含有高浓度病毒颗粒(≥ 10^7 颗粒 /ml)的样品，可直接应用电镜技术进行观察。对那些含低浓度病毒的样本，可用**免疫电镜技术**观察。即先将标本与特异抗血清混合，使病毒颗粒凝聚，这样更便于在电镜下观察，可提高病毒的检出率和特异性。

2. 光学显微镜检查 有些病毒在宿主细胞内增殖后，于细胞的一定部位(胞核、胞质或两者兼有)出现嗜酸性或嗜碱性包涵体，可在光学显微镜下观察到，对病毒感染的诊断有一定价值。如取可疑病犬的大脑海马回制成染色标本，发现细胞质内有内基小体便可确诊为狂犬病病毒感染，被咬者则需接种狂犬病疫苗。

(二) 病毒成分检测

1. 病毒蛋白抗原检测 可采用**免疫学标记技术**直接检测标本中的病毒抗原进行早期诊断。目前常用酶免疫测定(enzyme immunoassay，EIA)和免疫荧光测定(fluoroimmunoassay，FIA)，较少用有放射性污染的放射免疫测定(radioimmunoassay，RIA)，取而代之的是非放射性

笔记

标记物(如地高辛等)标记技术。这些技术操作简单、特异性强、敏感性高。特别是用标记质量高的**单克隆抗体**可检测到 ng 至 pg 水平的抗原或半抗原。应用**蛋白印迹**(Western blot)技术也可检测病毒抗原,但一般不常用。

2. 病毒核酸检测

(1) 核酸扩增(nucleic acid amplification)技术:选择病毒保守区的特异片段作为扩增的**靶基因**,用特异引物扩增病毒特异序列,以诊断病毒性感染;也可选择病毒变异区的片段作为靶基因,结合**限制性片段长度多态性分析**(RFLP)、测序等分子生物学技术对病毒进行分型和突变的研究。目前 PCR **技术**(包括 RT-PCR 技术)已发展到既能定性又能定量的水平,应用较多的是**实时定量** PCR(real-time PCR)。

(2) 核酸杂交(nucleic acid hybridization)技术:常用于病毒检测的核酸杂交技术有:**斑点杂交**(dot blot hybridization)、**原位杂交**(*in situ* hybridization)、DNA **印迹**(Southern blot)和 RNA **印迹**(Northern blot)等。

(3) 基因芯片(gene chip)技术:是指将大量探针分子固定于支持物上后与标记的样品分子进行杂交,通过检测每个探针分子的杂交信号强度进而获取样品分子的数量和序列信息,是对数以万计的 DNA 片段同时进行处理分析的技术,该技术在病毒诊断和流行病学调查方面有着广阔的应用前景。

(4) 基因测序技术:因目前对已发现的病毒全基因测序已基本完成,故可将所检测的病毒进行特征性基因序列测定并与这些基因库的病毒标准序列进行比较,以达到诊断病毒感染的目的。

需要说明的是,病毒核酸检测阳性,并不代表标本中或病变部位一定有活病毒。对未知基因序列的病毒及新病毒不能采用这些方法。

(三) 病毒感染的血清学诊断

采用血清学方法辅助诊断病毒性疾病,其原理是用已知病毒抗原来检测患者血清中有无相应抗体。遇下列情况时尤需做血清学诊断:①采取标本分离病毒为时已晚;②目前尚无分离此病毒的方法或难以分离的病毒;③为证实所分离病毒的临床意义;④进行血清流行病学调查等。

1. 中和试验(neutralization test)　病毒在细胞培养中被特异性抗体中和而失去感染性的一种试验。常用于检测患者血清中抗体的消长情况,也可用来鉴定未知病毒或对病毒进行半定量。用系列稀释的患者血清与等量的已知病毒悬液(100 $TCID_{50}$ 或 $100ID_{50}$)混合,在室温下作用一定时间后接种敏感细胞进行培养,以能保护半数细胞培养孔不产生 CPE 的血清最高稀释度作为终点效价。中和抗体是作用于病毒表面(衣壳或包膜)抗原的抗体,同种不同型病毒间一般无交叉,特异性高,而且抗体在体内维持时间长。中和抗体阳性不一定表示正在感染中,也可能因以前的隐性感染所致。因此,中和试验适用于人群免疫情况的调查,较少用于临床诊断。

2. 血凝抑制试验(hemagglutination inhibition test,HI)　具有血凝素的病毒能凝集鸡、豚鼠和人等的红细胞,称**血凝现象**。这种现象能被相应抗体抑制,称**血凝抑制**。其原理是相应抗体与病毒结合后,阻抑了病毒表面的血凝素与红细胞的结合。本试验简易、经济,特异性高,常用于黏病毒、乙型脑炎病毒感染的辅助诊断及流行病学调查,也可鉴定病毒的型与亚型。

3. 特异性 IgM 抗体检测　病毒感染机体后,特异性 IgM 抗体出现较早,检测病毒 IgM 抗体可辅助诊断急性病毒感染。常用的方法包括 ELISA 和 IFA,ELISA 中又以 IgM 捕捉法最为特异。

另外,检测**早期抗原的抗体**是快速诊断的另一途径。如检测针对 EB 病毒的早期抗原、核心抗原和衣壳抗原等的抗体,可以区别急性或慢性 EB 病毒感染。

综上所述,病毒的分离鉴定、病毒抗原检测、病毒的核酸检测技术及血清学试验是病毒性疾患的主要检查手段,具体可根据病毒与所引起疾病的临床特点选择合适的检测方法。

在实际应用过程中通常用快速诊断技术对病毒感染进行辅助诊断,其特点是不需分离、培

笔记

养病毒，而直接用电子显微镜等观察标本中的病毒颗粒，用免疫学方法和分子生物学方法等检测病毒成分（抗原或核酸）和 IgM 抗体等，以作出快速（常在数小时内）和早期诊断。

第二节 病毒感染的特异性预防

病毒感染的特异性预防是应用适应性免疫的原理，以病毒抗原刺激机体，或给予抗病毒特异性免疫产物（如抗体、细胞因子等），使机体主动产生或被动获得抗病毒的特异性免疫，从而达到预防和治疗病毒感染性疾病的目的。

一、人工主动免疫常用生物制品

1. 灭活疫苗（inactivated vaccine） 通过理化方法将具有毒力的病毒灭活后制成灭活疫苗，这种疫苗失去了感染性但仍保留原病毒的抗原性，常用的有肾综合征出血热疫苗、狂犬病疫苗、甲型肝炎疫苗、流感疫苗等。

2. 减毒活疫苗（attenuated vaccine） 通过毒力变异或人工选择培养将毒株变为减毒株或无毒株，常用的有脊髓灰质炎疫苗、流感疫苗、麻疹疫苗、腮腺炎疫苗、风疹疫苗、乙型脑炎疫苗等。

3. 亚单位疫苗（subunit vaccine） 是指用病毒保护性抗原如病毒包膜或衣壳的蛋白亚单位制成的不含有核酸、但能诱发机体产生免疫应答的疫苗。如流感病毒血凝素 18 个氨基酸肽、I 型脊髓灰质炎病毒 VP1 结构蛋白、HBsAg 及狂犬病病毒刺突糖蛋白等。

4. 基因工程疫苗（genetically engineering vaccine） 采用 DNA 重组技术，提取编码病毒保护性抗原基因，将其插入载体，并导入细菌、酵母菌或哺乳动物细胞中表达、纯化后制成的疫苗。例如目前已广泛使用的重组乙肝疫苗（rHBsAg）。

5. 重组载体疫苗（recombinant carrier vaccine） 是指将编码病毒抗原的基因转入到载体通常是减毒的病毒或细菌中制成的疫苗，痘苗病毒是常用的载体，已被用于 HAV、HBV、HSV、麻疹病毒等重组载体疫苗的研制。

6. 核酸疫苗（nucleic acid vaccine） 目前研究较多的是 DNA 疫苗，是把编码病毒有效免疫原的基因克隆到真核质粒表达载体上，然后将重组的质粒 DNA 直接注射到宿主体内，使外源基因在活体内表达，产生的抗原刺激机体产生免疫反应。目前已被应用于多种病毒疫苗的研究。

二、人工被动免疫常用生物制品

1. 免疫球蛋白 主要是从正常人血浆中提取的**血清丙种球蛋白**（serum gammaglobulin），可用于对某些病毒性疾病（如麻疹、甲型肝炎等）的紧急预防。此外，还有专门针对某一种特定病毒的高效价的特异性免疫球蛋白，如抗狂犬病的免疫球蛋白。

2. 细胞免疫制剂 目前临床用于治疗的细胞因子包括 IFN-α、IFN-β、IFN-γ、白细胞介素（IL-2、IL-6、IL-12 等）、肿瘤坏死因子（TNF）、集落刺激因子（CSF）等。主要用于某些病毒性疾病和肿瘤的治疗。

第三节 病毒感染的治疗

病毒为严格细胞内寄生性微生物，抗病毒药物必须进入细胞内才能作用于病毒，且必须对病毒有选择性抑制作用而对宿主细胞或机体无损伤。但病毒的复制过程与宿主细胞的生物合成过程相似，二者难以区分，故很难获得理想的抗病毒药物。从理论上讲，病毒复制周期中的任何一个环节都可作为抗病毒药物作用的靶位，例如：阻止病毒吸附和穿入宿主细胞，阻碍病毒脱壳，干扰病毒核酸复制与生物合成，抑制病毒的装配、成熟和释放等。

笔记

近年随着分子病毒学及生物信息学的发展，应用计算机进行病毒分子的模拟，极大地提高了抗病毒药物的筛选和研制的效率，但仍不能满足临床病毒性疾病治疗的需要。抗病毒的特异性药物治疗一直是医药学界关注和研究的热点。

目前，抗病毒药物的应用仍有较大的局限性，其主要原因是：①**药物靶位**均是病毒复制周期中的某一环节，故对不复制的潜伏感染病毒（如疱疹病毒等）无效；②某些复制突变率高的病毒（如 HIV、甲型流感病毒等），易产生**耐药毒株**。

（一）抗病毒化学制剂

1. 核苷类药物　核苷类化合物是最早用于临床的抗病毒药物。

（1）碘苷（idoxuridine，IDU）：即疱疹净，是 1959 年由 Prusoff 合成，用于治疗疱疹病毒引起的角膜炎获得成功，被誉为抗病毒发展史上的里程碑，并沿用至今。

（2）阿昔洛韦（acyclovir，ACV）：即无环鸟苷，为鸟嘌呤或脱氧鸟嘌呤核苷类似物。该药细胞毒性很小，是目前最有效的抗疱疹病毒药物之一。广泛用于疱疹病毒感染引起的单纯疱疹、生殖器疱疹及带状疱疹。

（3）阿糖腺苷（vidarabine，adenine arabinoside，Ara-A）：在细胞内被磷酸化形成 Ara-ATP，后者与 dTMP 竞争阻止 DNA 的合成。此外，Ara-A 还选择抑制 DNA 聚合酶，故用于疱疹病毒、巨细胞病毒以及 HBV 感染的治疗。

（4）齐多夫定（azidothymidine，AZT）：即叠氮胸苷，胸腺嘧啶核苷类似物，通过阻断前病毒 DNA 的合成而抑制 HIV 的复制，AZT 对病毒反转录酶的抑制比对细胞 DNA 聚合酶敏感 100 倍以上。可以有效地降低艾滋病的发病率与病死率。耐药株的出现系由基因突变导致反转录酶具有耐药性。因有抑制骨髓作用和形成病毒的耐药而将被淘汰。

（5）双脱氧肌苷（dideoxyinosine，didanosine，DDI）、双脱氧胞苷（dideoxyinosune，dideoxycytosine，DDC）、dTC（stavidine）：为胸腺嘧啶核苷类药物，这几类核苷衍生物对 HIV 有明显抑制作用。

（6）拉米夫定（lamivudine）：是一种脱氧胞嘧啶核苷类似物（全称 2′，3′ – 双脱氧 -3- 硫代胞嘧啶核苷），临床上该药最早用于艾滋病的抗病毒治疗。近年来，临床发现可迅速抑制慢性乙型肝炎患者体内 HBV 的复制，是目前治疗慢性乙型肝炎的药物之一。

（7）利巴韦林（ribavirin）：即病毒唑（virazole），对多种 RNA 和 DNA 病毒的复制都有抑制作用，但主要用于 RNA 病毒感染的治疗，对细胞的核酸也有抑制作用。目前临床主要用于流感和呼吸道合胞病毒感染的治疗。

核苷类药物的作用机制为：

1）抑制病毒基因复制：①模拟核苷成分掺入病毒基因组：合成的异常嘧啶取代病毒 DNA 前体的胸腺嘧啶，病毒在复制过程中，这种异常的嘧啶分子掺入子代 DNA 中使子代病毒结构基因的合成和表达无法进行，从而抑制病毒的复制，或复制出的病毒为缺陷病毒。IDU 除掺入病毒的 DNA 外，也可掺入细胞的 DNA，抑制细胞 DNA 的合成，故有一定的副作用。②竞争病毒复制酶：无环鸟苷、丙氧鸟苷属于此类。药物进入细胞后，被疱疹病毒特异性胸苷激酶磷酸化成三磷酸型。此三磷酸型药物分子与 dGTP 有类似活性，但与疱疹病毒聚合酶有较高的亲和力，而与 dGTP 竞争，以代替合成病毒 DNA 所需的 dGTP，因而抑制病毒 DNA 的复制。由于在正常细胞中无环鸟苷基本无作用，仅在有病毒感染的细胞中有作用，对病毒复制有高度的选择性，而对宿主细胞 DNA 的合成影响小，无环鸟苷抑制 HSV-1 复制与抑制宿主细胞生长的浓度相差约 3000 倍。因此，除局部使用外，也可用于注射，可减少疱疹病毒脑炎的死亡率和延长生存期。

2）抑制病毒基因转录：这类核苷衍生物模拟天然二脱氧核苷底物，经一系列磷酸化成为 5′ – 三磷酸后，作为相似的底物竞争性抑制病毒反转录酶活性。被磷酸化的药物分子与核苷酸分子相似，在 RNA 模板合成 DNA 过程中被嵌入 DNA 中。此 DNA 再转录时，由于其中的药物分子不是正常的核苷酸，因而转录酶不能识别，从而使转录受阻。

笔记

2. 非核苷类反转录酶抑制剂

(1) 奈韦拉平(nevirapine):是第一个新合成的非核苷类反转录酶抑制剂。1996 年获准用于治疗 HIV 感染,但耐药株已出现,故建议与其他药物联合使用。

(2) 吡啶酮(pyridone):作用类似奈韦拉平。

3. 蛋白酶抑制剂 尽管病毒的复制依赖于宿主细胞的酶系统,但有些病毒含有自身**复制酶**或**反转录酶**及**剪接加工修饰酶**,例如 HBV 有 DNA 酶,HIV 含有反转录酶。现发现有的病毒还具有降解大分子病毒蛋白的酶。寻找抑制或阻断这些具有酶功能的药物,是抗病毒药物设计研究的另一个重要方面。将病毒的酶蛋白作为靶分子,有利于减少药物的副作用,而增加药物的特异性和效力。

(1) 沙奎那韦(saquinavir):1995 年批准的第一个蛋白酶抑制剂。系应用电脑模型对 HIV 活性位点分析后设计的。沙奎那韦能够抑制 HIV 复制周期中的**晚期蛋白酶**活性,从而阻断病毒的装配。蛋白酶抑制剂与反转录酶抑制剂联合应用可十分有效地减少血液中 HIV 含量和延长存活期,但对细胞内的病毒作用欠佳。尚未发现耐药病毒株。在蛋白酶抑制剂和反转录酶抑制剂之间无交叉耐药,因为其涉及的是不同的酶。

(2) 茚地那韦(indinavir)、利托那韦(ritonavir):是 1996 年批准的新一代蛋白酶抑制剂,用于 HIV 感染的治疗。

4. 其他抗病毒药物 主要用于治疗**流感病毒**、**疱疹病毒**等感染的治疗。

(1) 金刚烷胺(amantadine)和甲基金刚烷胺(rimantadine):金刚烷胺为合成胺类,甲基金刚烷胺是其衍生物,两者有相同的抗病毒谱和副作用,能阻止脱壳,主要用于治疗甲型流感。

(2) 磷甲酸钠(phosphonoformic acid):是焦磷酸化合物,可抑制疱疹病毒科各种病毒的 DNA 聚合酶,对 HIV 逆转录酶的活性也有抑制作用。

(二) 干扰素和干扰素诱生剂

1. 干扰素(IFN) 具有广谱抗病毒作用,毒性小,使用同种 IFN 无抗原性,主要用于 HBV、HCV、人类疱疹病毒和乳头瘤病毒等感染的治疗。

2. 干扰素诱生剂

(1) **多聚肌苷酸和多聚胞啶酸**(poly I∶C):为目前最受重视的 IFN 诱生剂。此干扰素诱生剂制备较易,作用时间较长。但因对机体具有一些毒性,尚未达到普及阶段。

(2) 甘草甜素:是甘草酸与半胱氨酸、甘氨酸组成的合剂,具有诱生 IFN 和促进 NK 细胞活性的作用,可大剂量静脉滴注治疗肝炎。

(3) 芸芝多糖:是从杂色芸芝担子菌菌丝中提取的葡聚糖,具有诱生 IFN、抗病毒、促进免疫功能和抗肿瘤等作用。

(三) 中草药防治病毒感染

中草药如黄芪、板蓝根、大青叶、贯众、螃蜞菊以及甘草和大蒜提取物等均有抑制病毒的作用,对肠道病毒、呼吸道病毒、虫媒病毒、肝炎病毒感染有一定防治作用,其作用机制尚在研究中。

(四) 新抗生素类

近年类抗病毒药物研究的进展表明,一些来自真菌、放线菌等微生物的抗生素具有抗病毒感染作用。例如真菌产物 isochromophilones Ⅰ和Ⅱ及其衍生物能抑制 HIV 包膜表面 gp120 与 T 细胞表面 CD4 分子结合,阻止病毒吸附和穿入细胞;放线菌产物 chloropeptins Ⅰ和Ⅱ也能有效抑制 HIV gp120 与 T 细胞 CD4 分子结合;新霉素 B 是一种氨基糖苷类抗生素,可作用病毒复制中的调控因子,阻断 RNA 与蛋白质的结合,从而干扰病毒 RNA 的复制。

(五) 治疗性疫苗

笔记

所谓治疗性疫苗有别于传统的预防性疫苗,它是一种以治疗疾病为目的的新型疫苗,主要

有 DNA 疫苗和抗原抗体复合物疫苗。国内外也有人将乙肝疫苗(HBsAg)与其抗体(抗 HBs)及其编码基因一起制备治疗性疫苗用于病毒携带者及慢性肝炎的治疗。

（六）治疗性抗体

治疗性抗体对于病毒感染性疾病的治疗具有重要作用,它可以通过中和病毒、杀伤感染细胞以及调节免疫等机制达到治疗目的。随着抗体技术的发展,有很多学者正在研究抗病毒抗体用于病毒感染性疾病的治疗与预防。

1998 年美国 FDA 批准上市了第一个用于病毒感染性疾病的具有中和活性的人源化鼠单克隆抗体帕利珠单抗(palivizu mab),该抗体主要用于严重呼吸道合胞病毒(RSV)肺部感染的高危儿童。它是目前市场上唯一一个被批准上市的治疗病毒性疾病的单抗药物。国内研制的“注射用抗肾综合征出血热病毒单克隆抗体”已完成三期临床试验,结果表明其安全性好,疗效确切,并优于常规治疗药物。

（七）基因治疗剂

抗病毒基因治疗(antiviral gene therapy)目前还处于研究阶段,尚未应用于人体,许多问题有待进一步解决。有如下几种治疗剂:

1. 反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide,asON)　根据病毒基因组的已知序列,设计能与病毒基因的某段序列互补的寡核苷酸,称为反义寡核苷酸,或反义核酸。反义寡核苷酸可在基因的复制、转录和翻译阶段起抑制病毒的复制作用。一般设计的寡核苷酸都是针对病毒基因中的某关键序列。反义 RNA 与病毒靶基因的 mRNA 互补结合后,可阻断病毒 mRNA 与核糖体的结合,从而抑制病毒蛋白的翻译。反义 DNA 可与病毒的关键序列结合,阻抑病毒 DNA 的复制和 RNA 的转录。

2. 干扰 RNA(short interfering RNA,siRNA)　用双股短小 RNA 抑制相同序列病毒基因的表达,同源 mRNA 降解,通常双链 RNA 的长度要小于 26 个核苷酸。siRNA 所引起的基因沉默作用不仅在注射部位的细胞内发生,并可转移到其他部位的组织和细胞,而且可传代,因此这种干扰现象具有放大效应。

3. 核酶(ribozyme)　核酶是继反义 RNA 之后的又一种抑制病毒靶基因的基因治疗剂。一方面,核酶能识别特异的靶 RNA 序列,并与之互补结合,类似于反义核酸的特性;另一方面具有酶活性,能通过特异性位点切割降解靶 RNA。因此设计核酶不仅要根据靶分子的序列,还要根据靶分子的结构特征。核酶通过切割病毒的基因组、mRNA,减少或消除病毒的转录物,从而抑制病毒的复制。但核酶的本质是 RNA,易被组织中的 RNA 酶破坏,实际应用尚有困难。

（吴兴安）

笔记

第二十五章 呼吸道病毒

呼吸道病毒(viruses associated with respiratory infections)是指以呼吸道为侵入门户,在呼吸道黏膜上皮细胞中增殖,引起呼吸道局部感染或呼吸道以外组织器官病变的病毒。主要包括有**正黏病毒科**的流感病毒,**副黏病毒科**的副流感病毒、呼吸道合胞病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、亨德拉病毒、尼帕病毒和人偏肺病毒,**披膜病毒科**的风疹病毒,**小RNA病毒科**的鼻病毒、**冠状病毒科**的SARS冠状病毒等。此外,腺病毒、呼肠病毒、柯萨奇病毒与ECHO病毒、疱疹病毒等也可引起呼吸道感染性疾病。主要的呼吸道病毒及其所致呼吸道感染性疾病见表25-1。

表25-1 主要的呼吸道病毒及其所致呼吸道感染性疾病

病毒科	病毒种类	所致呼吸道感染性疾病
正黏病毒	甲、乙、丙型流感病毒	流行性感冒
副黏病毒	副流感病毒1~5型	普通感冒、支气管炎等
	呼吸道合胞病毒	婴儿支气管炎、支气管肺炎
	麻疹病毒	麻疹
	腮腺炎病毒	流行性腮腺炎
	亨德拉病毒	脑炎、呼吸道感染
	尼帕病毒	脑炎、呼吸道感染
	人偏肺病毒	毛细支气管炎、肺炎、上呼吸道感染
披膜病毒	风疹病毒	小儿风疹、胎儿畸形或先天性风疹综合征
小RNA病毒	鼻病毒	普通感冒、急性上呼吸道感染
冠状病毒	SARS冠状病毒	SARS(严重急性呼吸综合征)
	人其他型别冠状病毒	普通感冒、急性上呼吸道感染
腺病毒	腺病毒	小儿肺炎

第一节 正黏病毒

正黏病毒(*Orthomyxoviridae*)是指对人或某些动物细胞表面的粘蛋白有亲和性、有包膜、具有分节段RNA基因组的一类病毒,只有简称流感病毒的**流行性感冒病毒**(influenza virus)一个种,包括人流感病毒和动物流感病毒。人流感病毒是人流行性感冒(流感)的病原体,分为甲(A)、乙(B)、丙(C)三型;其中甲型流感病毒抗原性易发生变异,多次引起世界性大流行,例如1918—1919年的世界性流感大流行,造成约4000万人死亡。

一、生物学性状

(一)形态与结构

流感病毒一般为球形,直径为80~120nm,初次从患者体内分离出的病毒有时呈丝状或杆状;**病毒体结构主要包括病毒核酸与蛋白组成的核衣壳和包膜**(图25-1)。

1. **核衣壳** 位于病毒体的核心,呈螺旋对称排列,由病毒的单负链分节段RNA与一个或几个包含PB1、PB2和PA的**RNA依赖的RNA聚合酶**(RNA dependent RNA polymerase)结合,并

笔记

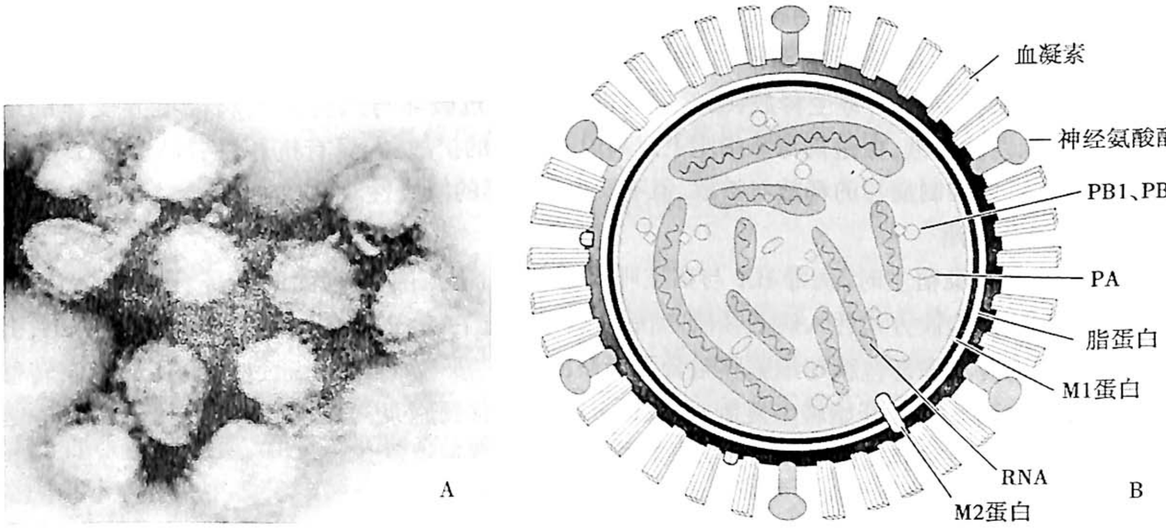


图 25–1　流行性感冒病毒的形态与结构
A. 病毒形态，负染，×100 000，透射电镜；B. 病毒结构，由内向外分别是核衣壳和包膜

被**核蛋白**（nucleoprotein，NP）覆盖，共同形成**核糖核蛋白**（ribonucleoprotein，RNP）。流感病毒基因组全长 13 600bp，其末端的 12~13 个核苷酸高度保守，与病毒复制有关。甲型和乙型流感病毒有 8 个 RNA 节段，丙型流感病毒缺乏形成神经氨酸酶的 NA 基因片段，只有 7 个 RNA 节段，各 RNA 节段的长度在 890~2341bp 之间。每个 RNA 节段分别编码不同的蛋白质，第 1~6 片段分别编码 PB2、PB1、PA、血凝素、NP 和神经氨酸酶，第 7 片段编码基质蛋白 M1 和 M2，第 8 片段编码非结构蛋白 NS1 和 NS2。**流感病毒的 RNP 无感染性。NP 是主要的结构蛋白，抗原结构稳定，与 M 蛋白一起决定病毒的型特异性，很少发生变异，其抗体无中和病毒能力。NS1 蛋白主要功能是以多种方式解除宿主干扰素防御系统**，在病毒转录及感染过程中起重要作用。

2. 包膜　由内层**基质蛋白**（matrix protein，M）和外层**脂蛋白**（lipoprotein，LP）组成，具有维持病毒外形与完整性等作用。**MP 蛋白抗原结构较稳定，呈型特异性，其抗体无中和病毒的能力**；其中 M1 蛋白是病毒主要的结构成分，与病毒包装、出芽与形态有关，M2 蛋白是离子通道型嵌膜蛋白，参与病毒复制。LP 主要来源于宿主细胞膜。

病毒体包膜上镶嵌有两种刺突，以疏水末端插入到脂质双层中，即**血凝素**（hemagglutinin，HA）和**神经氨酸酶**（neuraminidase，NA）。HA 数量较 NA 多，约为 4 : 1~5 : 1。**HA 和 NA 的抗原结构很不稳定，易发生变异，一个氨基酸的置换就可能改变其抗原性，是划分甲型流感病毒亚型的主要依据**。

（1）HA：约占病毒蛋白的 25%，为糖蛋白三聚体，每个单体的前体蛋白（HA0）由血凝素 1（HA1）和血凝素 2（HA2）通过精氨酸和二硫键连接而成。HA 必须在细胞蛋白酶水解作用下裂解精氨酸而活化为由二硫键连接的 HA1 和 HA2 后，才能形成病毒的感染性。HA1 是病毒与红细胞、宿主细胞受体唾液酸（sialic acid，SA）连接的部位，与病毒吸附与感染有关；HA2 具有膜融合活性，参与病毒包膜与细胞膜融合并释放核衣壳的过程。

HA 的主要功能：①凝集红细胞：通过与红细胞表面的糖蛋白受体结合，引起多种动物或人红细胞凝集，但病毒特异性抗体可以抑制红细胞凝集的形成。用**血凝试验**（hemagglutination test）与**血凝抑制试验**（hemagglutination inhibition test，HI）可辅助检测和鉴定流感病毒等；②吸附宿主细胞：通过与细胞表面特异性受体结合而促进流感病毒与宿主细胞的吸附，与病毒的组织嗜性和病毒进入细胞的过程有关；③具有抗原性：**HA 刺激机体产生的特异性抗体具有中和病毒感染性和抑制血凝的作用**，为保护性抗体。

（2）NA：约占病毒蛋白的 5%，为糖蛋白四聚体，由 4 个立体亚单位组成，呈纤维状镶嵌于包

笔记

膜脂质双层中，末端有扁球形结构。

NA 的主要功能：①参与病毒释放：通过水解病毒感染细胞表面糖蛋白末端的 N- 乙酰神经氨酸，促使成熟病毒体的芽生释放；②促进病毒扩散：通过破坏与细胞膜上病毒特异受体的结合，液化细胞表面黏液，促进病毒从细胞上解离以及病毒的扩散；③具有抗原性：**NA 刺激产生的特异性抗体可以抑制病毒的释放与扩散，但不能中和病毒的感染性。**

（二）复制周期

流感病毒感染宿主时，病毒 HA 与宿主呼吸道黏膜上皮细胞膜表面的受体唾液酸结合，引起细胞膜内陷以胞饮方式吞入病毒颗粒，随后在病毒 M 蛋白离子通道作用下降低细胞内 pH，引起 HA2 蛋白变构、病毒包膜与细胞膜融合而释放出核衣壳。病毒 RNP 通过核膜孔从胞浆转移到细胞核后，病毒 RNA 开始转录复制，合成的 mRNA 转移到胞浆，合成病毒的结构蛋白和非结构蛋白，并装配流感病毒，最后以出芽方式释放出子代病毒颗粒。

（三）分型与变异

根据 NP 和 MP 的抗原性不同，流感病毒被分为甲、乙、丙三型。根据病毒表面 HA 和 NA 抗原性的不同，甲型流感病毒又分为若干亚型，迄今发现 HA 有 16 种(1~16)抗原，NA 有 9 种(1~9)抗原。目前，在人间流行的甲型流感病毒亚型主要有 H1、H2、H3 和 N1、N2 等抗原构成的亚型，1997 年以来发现 H5N1、H7N2、H7N7、H9N2 等型禽流感病毒也可以感染人；乙型流感病毒间虽有变异大小之分，但未划分为亚型；丙型流感病毒未发现抗原变异与新亚型。

流感病毒易于发生抗原性变异、温度敏感性变异等。抗原性变异是流感病毒变异的主要形式，病毒表面抗原 HA 和 NA 是主要的变异成分。流感病毒的抗原性变异包括**抗原性转变**(antigenic shift)和**抗原性漂移**(antigenic drift)两种形式。

抗原性转变属于质变，是指在自然流行条件下，甲型流感病毒表面的一种或两种抗原结构发生大幅度的变异，或者由于两种或两种以上甲型流感病毒感染同一细胞时发生基因重组而形成，并出现与前次流行株的抗原结构不同的新亚型(如 H1N1 转变为 H2N2 等)。由于人群缺少对变异病毒株的免疫力，这些新亚型可以与旧亚型交替出现或共同存在，引起人间流感大流行。甲型流感病毒的抗原性变异与流感大流行见表 25-2。

表 25-2 甲型流感病毒的抗原性变异与流感大流行

亚型名称	抗原结构	流行年代	代表病毒株型别 / 分离地点 / 毒株序号 / 分离年代(亚型)
Hsw1N1	H1N1	1918—1919(西班牙流感)	猪流感病毒相关(H1N1)
亚洲甲型(A1)	H1N1	1946—1957	A/FM/1/4/(H1N1)
亚洲甲型(A2)	H2N2	1957—1968(亚洲流感)	A/Singapore/1/57(H2N2)
香港甲型	H3N2	1968—1977(香港流感)	A/Hongkong/1/68(H3N2)
香港甲型与新甲型	H3N2，H1N1	1977—(俄罗斯流感)	A/USSR/90/77(H1N1)
新甲型	H5N1，H1N1	1997—(高致病性禽流感、猪流感)	A/California/7/2009(H1N1)

抗原性漂移属于量变，即亚型内变异，变异幅度小或连续变异，通常由病毒基因点突变和人群免疫力选择性降低引起，易于发生小规模的流感流行。

（四）培养特性

流感病毒能在鸡胚羊膜腔和尿囊腔中增殖。增殖的病毒游离于羊水或尿囊液中，用红细胞凝集试验可检出病毒。在细胞培养(人羊膜、猴肾、狗肾、鸡胚等细胞)中可以增殖，但不引起明显的 CPE，依流感病毒 HA 的凝集与吸附红细胞能力建立的**红细胞吸附试验**(hemadsorption test)可以判定病毒感染与增殖情况。在小鼠中连续传代可提高毒力，引起小鼠肺部广泛性病变或死

笔记

亡。雪貂对流感病毒易感。

（五）抵抗力

流感病毒抵抗力弱，不耐热，56℃ 30 分钟即可灭活；室温下病毒传染性很快丧失，在 0~4℃能存活数周。对干燥、日光、紫外线以及乙醚、甲醛等化学试剂敏感。

二、致病性和免疫性

（一）致病性

流感病毒易于发生抗原变异，是引起流行性感冒的主要病毒。甲型流感病毒除感染人类以外，还可以感染禽、猪、马等动物；乙型流感病毒可以感染人和猪；而丙型流感病毒只感染人类。流感病毒通常引起呼吸道局部感染，不引起病毒血症；多呈季节性广泛流行，北方以冬季为主，南方四季都有发生，在夏季和冬季达到高峰。传染源主要是患者，其次为隐性感染者，感染的动物亦可传染人；主要传染途径是病毒经飞沫、气溶胶通过呼吸道在人间传播。人群普遍易感，潜伏期长短取决于侵入病毒量和机体免疫状态，一般为 1~4 天。

病毒感染呼吸道上皮细胞后，可迅速形成子代病毒并扩散和感染邻近细胞，引起广泛的细胞空泡变性，随后患者出现畏寒、头痛、发热、浑身酸痛、鼻塞、流涕、咳嗽等症状。在症状出现的 1~2 天内，病毒随分泌物大量排出，以后则迅速减少。流感发病率高，但病死率低，死亡病例多见于有细菌性感染等并发症的婴幼儿、老人等。1997 年以来，我国香港和多个国家与地区发生了较大规模的 H5N1 高致病性禽流感（highly pathogenic avian influenza，HPAI）病例，累计禽流感患者达数百例。禽流感病毒不能在人间直接传播，但重组形成的新病毒可能引起人间流行。高致病性禽流感病毒 H5N1 的主要致病机制是抵抗干扰素等的抗病毒作用、激发机体免疫病理性损伤；其非结构蛋白 NS1 有重要作用。

唾液酸是甲型和乙型流感病毒受体的基本成分，其末端携带的唾液酸 -α- 半乳糖 -β- 葡萄糖残基包括 α-2、3-Gal-β1、4-Glu 与 α-2、6-Gal-β1、4-Glu 残基两种，前者是人流感病毒受体，主要分布于人咽喉和鼻腔的细胞表面，后者是禽流感病毒受体，主要分布于人下呼吸道的支气管和其前端的肺泡细胞上，但两种类型受体均可以分布于猪气管上皮细胞表面。这种受体分布差异与禽流感病毒的在人间扩散与传播有关。

（二）免疫性

在流感病毒感染或疫苗接种后，机体可形成特异性免疫应答。**呼吸道黏膜局部分泌的 sIgA 抗体有阻断病毒感染的保护作用，但只能短暂存留几个月。血清中抗 HA 特异性抗体为中和抗体，有抗病毒感染、减轻病情的作用，可持续存在数月至数年**；抗 NA 特异性抗体可以抑制病毒的释放与扩散，但不能中和病毒的感染性；抗 NP 特异性抗体具有型特异性，可用于病毒的分型。不同型别流感病毒感染不能诱导交叉性保护抗体的产生。流感病毒特异性 $CD4^+$ T 淋巴细胞可以辅助 B 淋巴细胞产生特异性抗体，$CD8^+$ T 细胞可通过直接作用和溶解病毒感染细胞，发挥交叉抗病毒作用，参与病毒的清除与疾病的恢复。

三、微生物学检查法

在流感流行期间，根据典型临床症状可以初步诊断，但确诊或流行监测必须结合实验室检查，主要包括病毒分离与鉴定、血清学诊断和快速诊断方法。

1. 病毒的分离与鉴定　采集发病 3 天以内患者的咽洗液或咽拭子，经抗生素处理后接种于 9~11 日龄鸡胚羊膜腔或尿囊腔中，于 33~35℃孵育 3~4 天后，收集羊水或尿囊液进行红细胞凝集试验；如红细胞凝集试验阳性，再用已知免疫血清进行红细胞凝集抑制试验，以鉴定分离病毒的型别，若阴性则需用鸡胚盲目传代 3 次以上，仍无红细胞凝集现象为病毒分离阴性。细胞培养（如人胚肾或猴肾）也可用于病毒分离，用红细胞吸附方法或荧光抗体方法可以判定病毒感染

笔记

和增殖情况。

2. **血清学诊断** 采取患者急性期（发病5天内）和恢复期（病程2~4周）双份血清，**用HI试验检测抗体效价**，如果恢复期比急性期血清抗体效价升高4倍以上，即可作出诊断。进行HI试验时，需要选用流行的病毒株，用胰蛋白酶等处理血清以排除血清中存在的非特异性抑制物。用**补体结合试验**（complement fixation，CF）可以检测NP、MP抗体，这些抗体出现早、消失快，可以作为新近感染的指标。

3. **快速诊断** 采用间接或直接免疫荧光法、ELISA法检测病毒抗原，可进行快速诊断。病毒抗原检测主要用荧光素标记的流感病毒特异性抗体，检查患者鼻黏膜印片或呼吸道脱落上皮细胞涂片中的病毒抗原，或用单克隆抗体ELISA检查患者呼吸道脱落上皮细胞或咽漱液中的病毒颗粒或病毒抗原，可于24~72小时内辅助诊断。另外，用PCR、核酸杂交或序列分析等方法检测病毒核酸可以快速诊断。

四、防治原则

加强锻炼，流行期间避免到人群聚集的公共场所，必要的空气消毒等可以在一定程度上预防流感的发生。在流感流行季节之前对人群进行流感疫苗预防接种，可有效减少接种者感染流感的机会或减轻流感症状。但由于流感病毒的变异，需要选育流行病毒株及时制备特异性预防疫苗。**目前使用流感疫苗包括全病毒灭活疫苗、裂解疫苗和亚单位疫苗3种**。每种疫苗均含有甲1亚型、甲3亚型和乙型3种流感病毒的灭活病毒颗粒或抗原组分。经皮下接种可产生大量的IgG抗体，但产生局部sIgA抗体较少，需多次接种。在流感流行高峰前1~2个月接种流感疫苗可有效发挥保护作用。

流感的治疗以对症治疗和预防继发性细菌感染为主。金刚烷胺可抑制甲型流感病毒的穿入与脱壳过程。奥司他韦（oseltamivir）可以选择性抑制甲型流感病毒的NA活性。干扰素等有一定疗效。

第二节 副黏病毒

副黏病毒科（Paramyxoviridae）包括副流感病毒、麻疹病毒、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、尼帕病毒和人偏肺病毒。与正黏病毒相比，副黏病毒具有相似的病毒形态及血凝作用，但具有不同的基因结构、抗原性、免疫性及致病性等。副黏病毒与正黏病毒的比较见表25-3。

表25-3 副黏病毒与正黏病毒的特性比较

特性	正黏病毒（orthomyxovirus）	副黏病毒（paramyxovirus）
病毒形态	有包膜，球形80~120nm，有时呈丝形	有包膜，球形，大小150~300nm
基因特征	分8个节段，单股负链RNA，对RNA酶敏感	不分节段，单股负链RNA，对RNA酶稳定
抗原变异	高频率	低频率
血凝特点	有	有
溶血特点	无	有
包膜表面蛋白	HA蛋白和NA蛋白	HN蛋白（副流感病毒、腮腺炎病毒） HA蛋白无NA蛋白（麻疹病毒） 无HA蛋白和NA蛋白（冠状病毒、呼吸道合胞病毒、亨德拉病毒、尼帕病毒、人偏肺病毒）

笔记

一、麻疹病毒

麻疹病毒（measles virus）属于副黏病毒科的麻疹病毒属（*Morbillivirus*），是麻疹（measles）的病原体。麻疹是一种传染性很强的急性传染病，常见于儿童，以皮丘疹、发热及呼吸道症状为特征，如无并发症，预后良好。麻疹是发展中国家儿童死亡的一个主要原因，我国自20世纪60年代初应用减毒活疫苗以来，麻疹的发病率显著下降。此外，麻疹病毒感染还与**亚急性硬化性全脑炎**（subacute sclerosing panencephalitis，SSPE）的发生有关。

（一）生物学性状

1. 形态与结构　麻疹病毒为球形或丝形，直径约120~250nm，有包膜，核衣壳呈螺旋对称，核心为不分节段的单负链RNA，基因组全长约16kb，包括N、P、M、F、H、L共6个基因，分别编码6种结构和功能蛋白，包括核蛋白（nucleoprotein，NP）、磷蛋白（phosphoprotein，P）、膜蛋白（membrane protein，M）、融合蛋白（fusion protein，F）、血凝素（hemagglutinin，HA）和依赖RNA的RNA聚合酶（large polymerase，L）。病毒表面有HA和溶血素（haemolysin，HL）两种糖蛋白刺突，但没有NA。HA和HL有抗原性，产生的相应抗体有保护作用。HA能与宿主细胞受体吸附，参与病毒感染，但只能凝集猴红细胞。HL具有溶血和促进感染细胞融合形成多核巨细胞的作用。

2. 培养特性　病毒可在许多原代或传代细胞（如人胚肾、人羊膜、Vero、HeLa等细胞）中增殖，并产生细胞融合或形成多核巨细胞病变等。在病毒感染细胞浆及胞核内可见嗜酸性包涵体。

3. 抗原性　**麻疹病毒抗原性较稳定，只有一个血清型**，但存在小幅度的抗原变异。根据麻疹病毒核蛋白基因C末端高变区或全长血凝素基因特点，可以将野生型麻疹病毒分为A~H 8个基因群（genetic group），包括23个基因型（genotype）。

4. 抵抗力　麻疹病毒抵抗力较弱，加热56℃、30分钟和常用消毒剂均可灭活，且对日光及紫外线敏感。

（二）致病性与免疫性

人是麻疹病毒的唯一自然储存宿主。麻疹传染源是急性期患者，在患者出疹前6天至出疹后3天内有传染性；主要通过**飞沫传播**，也可经患者用品或密切接触传播。**麻疹传染性极强，易感者接触后几乎全部发病**。潜伏期为9~12天。麻疹病毒经呼吸道进入机体后，首先感染具有麻疹病毒受体CD46分子的靶细胞，并在其中增殖，再侵入淋巴结增殖后，入血形成第一次病毒血症；同时病毒在全身淋巴组织中大量增殖后再次入血，形成第二次病毒血症。此时患者出现发热，以及病毒感染结膜、鼻咽黏膜和呼吸道黏膜等引起的**上呼吸道卡他症状**；病毒还可在真皮层内增殖，在口腔两颊内侧黏膜表面形成特征性的中心灰白、周围红色的**Koplik斑**（koplik's spots）。发病3天后，患者可出现特征性米糠样皮疹；麻疹患儿在皮疹出齐24小时后体温开始下降，1周左右呼吸道症状消退，皮疹变暗，有色素沉着。部分年幼体弱的患儿，易并发细菌性感染，如继发性细菌性肺炎、支气管炎和中耳炎等，是麻疹患儿死亡的主要原因。免疫缺陷儿童感染麻疹病毒，常无皮疹，但可发生严重致死性麻疹巨细胞肺炎。

麻疹病毒感染后，大约有0.1%的患者可以发生迟发型超敏反应性疾病，引起脑脊髓炎，常于病愈1周后发生，呈典型的脱髓鞘病理学改变及明显的淋巴细胞浸润，伴有永久性后遗症，病死率为15%。另外，约百万分之一的麻疹患者疾病恢复后数年内或在学龄期前，可以发生亚急性硬化性全脑炎，为急性病毒感染的迟发并发症，表现为渐进性大脑衰退，一般在1~2年内死亡。在患者血清及脑脊液中可以检测到高效价的IgG或IgM抗麻疹病毒抗体，但是麻疹病毒的分离很困难，推测可能是由于脑细胞内存在的是一种缺陷的麻疹病毒，因M基因变异而缺乏合成麻疹病毒M蛋白的能力，病毒不能正常装配、出芽与释放。通过SSPE尸检脑组织细胞与麻疹病毒敏感细胞（如HeLa、Vero等）的共同培养，可分离出麻疹病毒。病毒受体是膜辅助蛋白（membrane cofactor protein，MCP）和信号淋巴细胞活化分子（signaling lymphocyte activation molecule，SLAM）。

笔记

麻疹愈后可获得终生免疫力，包括体液免疫和细胞免疫。感染后产生的抗 HA 抗体和 HL 抗体均有中和病毒作用，而且 HL 抗体还能阻止病毒在细胞间扩散，感染初期以 IgM 为主，随后以 IgG1 和 IgG4 为主。**细胞免疫有很强的保护作用，在麻疹恢复中起主导作用**，即使伴有免疫球蛋白缺陷的麻疹患者也可能痊愈并抵抗再感染，但细胞免疫缺陷的麻疹患者预后极为不好。在出疹初期患者的末梢血中可检出特异的杀伤性 T 细胞。出生后 6 个月内的婴儿因从母体获得 IgG 抗体，故不易感染，但随着年龄增长，抗体逐渐消失，易感性也随之增加；故麻疹多见于 6 个月至 5 岁的婴幼儿。

（三）微生物学检查法

根据临床症状即可诊断典型麻疹，对轻症和不典型病例需要微生物学检查进行确诊。但病毒分离鉴定方法复杂、费时，因此常用血清学实验进行诊断。

1. 病毒分离与鉴定 取患者发病早期的血液、咽洗液或咽拭子，经抗生素处理后接种于人胚肾、猴肾或人羊膜细胞中进行病毒分离培养；病毒增殖缓慢，7~10 天以后可出现典型 CPE，形成多核巨细胞、胞内或核内嗜酸性包涵体等；用免疫荧光技术检测病变细胞中的麻疹病毒抗原等可以进行病毒鉴定。

2. 血清学诊断 取患者急性期和恢复期双份血清，进行 HI 试验、CF 试验或中和试验等，可以检测病毒特异性抗体。当抗体滴度增高 4 倍以上可辅助诊断麻疹病毒感染。此外，用间接荧光抗体法或 ELISA 检测 IgM 抗体，可以辅助早期诊断。

3. 快速诊断 用荧光标记抗体检查患者卡他期咽漱液中的黏膜细胞中麻疹病毒抗原，以及用核酸分子杂交技术及 RT-PCR 技术等检测感染细胞内的病毒核酸可以快速诊断麻疹病毒感染。

（四）防治原则

预防麻疹的主要措施是隔离患者，以及进行人工主动免疫提高儿童免疫力。目前我国主要使用麻疹减毒活疫苗进行免疫接种，国外还有使用**麻疹 - 腮腺炎 - 风疹三联疫苗**（measles-mumps-rubella vaccine，MMR）进行免疫接种，显著降低了麻疹发病率。我国计划免疫程序是初次免疫为 8 月龄，1 年后及学龄前再加强免疫；皮下注射麻疹减毒活疫苗后，抗体阳转率可达 90% 以上，免疫力可持续 10 年左右。对于部分与麻疹患儿有密切接触，但未注射过疫苗的易感儿童，可在接触后的 5 天内肌注麻疹恢复期人血清或丙种球蛋白等进行被动免疫，有一定的预防效果。

二、腮腺炎病毒

腮腺炎病毒（mumps virus）属于副黏病毒科的德国麻疹病毒属（*Rubulavirus*），主要引起以腮腺肿胀、疼痛为主要症状的流行性腮腺炎，多见于儿童。腮腺炎病毒呈球形，直径为 100~200nm，核衣壳呈螺旋对称。核酸为非分节段的单负链 RNA，共编码 7 种蛋白质，即核蛋白（N）、磷蛋白（P）、膜蛋白（M）、融合蛋白（F）、小疏水蛋白（small hydrophobic protein，SH）、血凝素 / 神经氨酸酶 HN 和依赖 RNA 的 RNA 聚合酶 L。病毒包膜上有 HA 和 NA 糖蛋白刺突。腮腺炎病毒仅有一个血清型，目前根据 SH 基因序列的差异可以区分出 A~K 11 个基因型。病毒可在鸡胚羊膜腔内增殖，在猴肾细胞等细胞培养中增殖能引起细胞融合，形成多核巨细胞。

人是腮腺炎病毒唯一储存宿主，主要通过飞沫传播。病毒首先于鼻或呼吸道上皮细胞中增殖，随后入血引起病毒血症，并扩散感染至唾液腺及其他器官，还可以引起部分患者的胰腺、睾丸或卵巢等感染，严重者可并发脑炎。

疾病的潜伏期为 7~25 天，平均约 18 天。排毒期为发病前 6 天到发病后 1 周。患者表现为软弱无力及食欲减退等前驱期症状，随即出现腮腺肿大、疼痛，并伴有低热。病程大约持续 7~12 天。病后可获得持久免疫，6 个月以内婴儿可从母体获得被动免疫而不易患腮腺炎。

笔记

根据典型病例的临床表现，易于诊断，但不典型病例需做病毒分离或血清学诊断，也可用RT-PCR或核酸序列测定方法进行实验室诊断。腮腺炎的预防以隔离患者，减少传播机会和接种疫苗为主。目前，采用麻疹－腮腺炎－风疹三联疫苗进行接种，免疫保护效果较好。尚无有效药物治疗，中草药有一定治疗效果。

三、呼吸道合胞病毒

呼吸道合胞病毒（respiratory syncytial virus，RSV）属于副黏病毒科的肺病毒属（*Pneumovirus*），**只有一个血清型**。主要引起6个月以下婴儿患细支气管炎和肺炎等下呼吸道感染，以及较大儿童和成人的鼻炎、感冒等上呼吸道感染。

病毒形态为球形，直径为120~200nm，有包膜，基因组为不分节段的单负链RNA，主要编码10种蛋白质，即融合蛋白（F）、黏附蛋白（G）和小疏水蛋白（SH）3种跨膜蛋白，2种基质蛋白M1和M2，3种与病毒RNA相结合形成核衣壳的蛋白（N、P和L），2种非结构蛋白（NS1和NS2）。病毒包膜上有糖蛋白组成的刺突，无HA、NA和HL。病毒不能在鸡胚中生长，但可在多种培养细胞中缓慢增殖，约2~3周出现细胞病变。病变特点是形成细胞融合的多核巨细胞，胞浆内有嗜酸性包涵体。

病毒抵抗力较弱，对热、酸及胆汁以及冻融处理敏感，因此标本最好直接接种至培养细胞中，避免冻存处理。

RSV感染流行于冬季和早春，传染性较强，主要经飞沫传播，或经污染的手和物体表面传播。病毒首先在鼻咽上皮细胞中增殖，随后扩散至下呼吸道，但不形成病毒血症。潜伏期为4~5天，可持续1~5周内释放病毒。RSV感染仅引起轻微的呼吸道纤毛上皮细胞损伤，**但在2~6个月的婴幼儿感染中，可引起细支气管炎和肺炎等严重呼吸道疾病**，其发生机制除病毒感染直接作用外，可能与婴幼儿呼吸道组织学特性、免疫功能发育未完善及免疫病理损伤有关。而且，严重RSV疾病免疫病理损伤主要是机体产生特异性IgE与RSV相互作用引起Ⅰ型超敏反应的结果，但与血清中IgG抗体无关。

RSV所致疾病在临床上与其他病毒或细菌所致类似疾病难以区别，因此需要进行病毒分离和抗体检查，但操作复杂、费时。常用免疫荧光试验等直接检查咽脱落上皮细胞内的RSV抗原，以及RT-PCR检测病毒核酸等进行辅助诊断。尚无特异性的治疗药物和预防疫苗。

四、副流感病毒

副流感病毒（parainfluenza virus）属于副黏病毒科的德国麻疹病毒属。病毒呈球形，直径为125~250nm。核酸为不分节段的单负链RNA，主要编码融合蛋白F、凝血素/神经氨酸酶（HN）、基质蛋白（M）、核蛋白（N）、聚合酶复合物（P+C）和RNA依赖的RNA聚合酶（L）蛋白。核衣壳呈螺旋对称，包膜上有两种刺突，一种是HN蛋白，具有HA和NA作用；另一种是F蛋白，具有融合细胞及溶解红细胞的作用。RNA在胞浆内复制。

根据抗原构造不同，副流感病毒分为5型。其中1、2、3型副流感病毒是感染人类的主要型别。病毒通过人间直接接触或飞沫传播，首先在呼吸道上皮细胞中增殖，一般不引起病毒血症。副流感病毒可引起各年龄段人群的上呼吸道感染，并可引起婴幼儿及儿童发生严重的呼吸道疾病，如小儿哮喘、细支气管炎和肺炎等。儿童感染的潜伏期尚不清楚，成人感染潜伏期为2~6天，感染1周内可以有病毒排出。所有婴儿可自母体获得副流感病毒抗体，但无保护作用。自然感染产生的sIgA对再感染有保护作用，但只能保持几个月，因此再感染多见。

实验室诊断主要通过细胞培养分离鉴定病毒，或用免疫荧光检查鼻咽脱落细胞中的病毒抗原等来完成。尚无特异性的有效药物与疫苗。

笔记

五、亨德拉病毒与尼帕病毒

亨德拉病毒(Hendra virus, HeV)与尼帕病毒(Nipah virus, NiV)是近年发现的人兽共患的副黏病毒,具有副黏病毒科病毒的典型特征,共同构成了该科病毒的亨尼帕病毒属(*Henipavirus*)。病毒的单股负链RNA基因组约18kb,主要包括N、P、M、F、G和L基因读码框,分别编码核蛋白(N)、磷蛋白(P)、基质蛋白(M)、融合蛋白(F)、黏附蛋白(G)和RNA依赖的RNA聚合酶(L),其中P基因还可以编码主要影响宿主免疫的病毒毒力因子V、C和W蛋白。

亨德拉病毒、尼帕病毒感染主要通过密切接触在动物以及动物与人之间传播,果蝙(fruit-bat)是主要的中间宿主。亨德拉病毒主要引起人和马的神经系统及呼吸系统感染,马是主要传染源。尼帕病毒主要引起人和猪的神经系统及呼吸系统感染,猪是主要传染源。尼帕病毒感染主要表现为病毒脑炎,潜伏期为4~18天,初期症状轻微,呈类流感症状,随后出现高热、头痛、视力模糊和昏迷等症状,致死率高。成人患者多见,80%以上为男性,致死率高。部分痊愈患者中,多数遗留不同程度的脑损伤。尚无特异性的治疗方法和疫苗。

六、人偏肺病毒

人偏肺病毒(human metapneumovirus, HMPV)是2001年荷兰学者首次在不明原因的呼吸道感染儿童中分离出的一种新病毒,具有类似副黏病毒的电镜形态与生化特征,属于该病毒科的偏肺病毒属(*Metapneumovirus*),是偏肺病毒属中第一个人类病毒。HMPV的单股负链RNA基因组约13 300bp,主要编码核蛋白(N)、磷蛋白(P)、基质蛋白(M)、小疏水蛋白(SH)、黏附蛋白(G)、融合蛋白(F)、转运延长因子(M2-1)、RNA合成调节因子(M2-2)和RNA依赖的RNA聚合酶(L)共9种蛋白。HMPV在系统发生上有2个基因型,在血清学上为2个血清型及4个亚型。

HMPV主要经呼吸道传播,临床特点与RSV感染相似,但病情较缓和,病程略短。人群普遍易感,低龄儿童、老年人和免疫功能受损人群中发病率较高,并可引起致死性感染。通常表现为毛细支气管炎、肺炎、上呼吸道感染、眼结合膜炎、中耳炎等,如与其他呼吸道病毒混合感染时症状加重,并易合并心力衰竭、呼吸衰竭。病毒感染与复制主要局限于呼吸道纤毛上皮顶端,一般不累及Ⅰ型肺泡细胞和肺吞噬细胞;在血清、脾、心脏和脑组织中也检测不到HMPV及其RNA。在感染后2周可检测到特异性IgG抗体,4周达高峰,伴有NK细胞和T细胞明显减少。通过对咽拭子等标本进行病毒培养分离、血清学诊断、酶联扩增杂交分析、实时RT-PCR等可辅助诊断。其中,病毒N和L基因特异性的实时RT-PCR是敏感的快速诊断方法。尚无特异性的治疗药物和疫苗。

第三节 冠状病毒

冠状病毒(coronavirus)属于冠状病毒科(Coronaviridae)冠状病毒属(*Coronavirus*)。由于病毒包膜上有向四周伸出的突起,形如花冠而得名(图25-2)。冠状病毒大部分感染动物,目前从人分离的冠状病毒主要有普通冠状病毒229E、OC43和SARS冠状病毒(SARS-CoV)三个型别。

(一)生物学形状

病毒直径约80~160nm,核衣壳呈螺旋状,包膜表面有多形性花冠状突起。病毒基因组为非分节段的单正链RNA,约27 000~32 000bp,是基因组最大的RNA病毒,其3′末端有poly A,裸露的RNA有感染性。病毒的核衣壳呈螺旋对称,外被有20nm的长管状或纤维状刺突的包膜。病毒分别编码核蛋白(N)、包含基质蛋白(matrix protein)的膜蛋白(M)、包膜蛋白(E)与包膜表面的刺突糖蛋白(spike glycoprotein, S)以及RNA聚合酶(polymerase, Pol)。某些病毒包膜上存在的血凝素-酯酶蛋白(hemagglutinin-esterase protein, HE),既有HA的血凝活性,又有类似NA的酯酶活性。病毒对乙醚、三氯甲烷、酯类、紫外线以及理化因子较敏感,37℃数小时便丧失感染性。

笔记

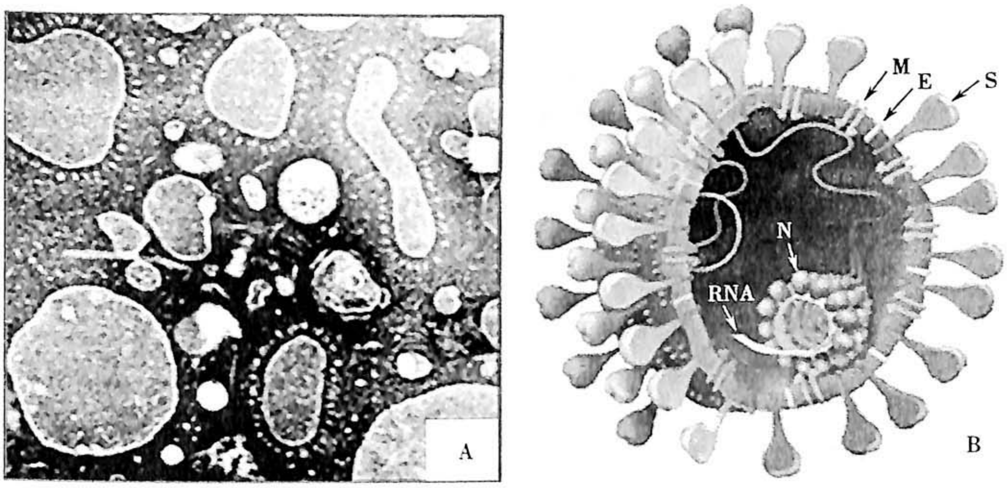


图 25-2 冠状病毒形态与结构
A. 病毒形态：负染，×80 000，透射电镜；B. 病毒结构

冠状病毒可在人胚肾、肠、肺的原代细胞中生长，感染初期细胞病变不明显，连续传代后细胞病变明显加强；与冠状病毒属中其他已知的成员不同，SARS-CoV 可引起 Vero 细胞和 FRhk-4 细胞的 CPE。冠状病毒 229E 的受体是氨基肽酶 N（aminopeptidase N，APN），而 SARS-CoV 的受体是血管紧张素酶 2（angiotensin-converting enzyme 2，ACE2）。

（二）致病性与免疫性

冠状病毒主要感染成人或较大儿童，引起普通感冒和咽喉炎，某些毒株还可引起成人腹泻，SARS-CoV 可引起**严重急性呼吸综合征**（severe acute respiratory syndrome，SARS）。病毒经飞沫传播，粪口途径亦可以传播。主要在冬春季流行。疾病的潜伏期平均 3~7 天。SARS 的主要症状有发热、咳嗽、头痛、肌肉痛以及呼吸道感染症状。大多数 SARS 患者能够自愈或治愈，病死率约 14%，尤其在 40 岁以上或有潜在疾病者（如冠心病、糖尿病、哮喘以及慢性肺病）病死率高。病后免疫力不强，不能防御同型病毒的再感染。

（三）微生物学检查与防治原则

结合临床症状及实验室检验可以辅助诊断。SARS 相关样品处理、病毒培养和动物试验需要在**生物安全三级**（biosafety level-3，BSL-3）实验室进行。一般用细胞培养、器官培养，自鼻分泌物、咽漱液等标本进行病毒分离。用双份血清做中和试验、ELISA 等进行血清学诊断。快速诊断可用免疫荧光技术、酶免疫技术和 RT-PCR 技术检测病毒抗原或核酸。尚无特异性的治疗药物和预防疫苗。

第四节 其他呼吸道病毒

一、风疹病毒

风疹病毒（rubella virus，RV）为披膜病毒科（Togaviridae）风疹病毒属（*Rubivirus*）的唯一成员，是**风疹**（rubella，Germen measles）的病原体，除引起儿童和成人普通风疹以外，还引起胎儿畸形等**先天性风疹综合征**（congenital rubella syndrome，CRS），危害严重。

风疹病毒为单股正链 RNA 病毒，直径约 60nm，有包膜，核衣壳为二十面体对称，基因组全长 9700bp，含 2 个 ORF。5′ 端为 ORF1 编码两个非结构蛋白（NSP），3′ 端为 ORF2 编码一条分子量为 230kDa 的多聚蛋白前体，酶切后形成 3 种结构蛋白，即核衣壳蛋白（C）、包膜蛋白（E1 和 E2）。病毒包膜蛋白刺突有血凝性。风疹病毒只有一个血清型，能在细胞内增殖。风疹病毒对热、

笔记

脂溶剂和紫外线敏感。

人是风疹病毒唯一的自然宿主。风疹病毒经呼吸道传播，病毒在呼吸道局部淋巴结增殖后，经病毒血症播散全身，引起风疹。**儿童风疹最为常见**，通常在2周左右的潜伏期后，出现发热和轻微的麻疹样出疹，伴耳后和枕下淋巴结肿大等。成人感染风疹病毒的症状较严重，除出疹外，还有关节炎和关节疼痛、血小板减少、出疹后脑炎等。**风疹病毒感染最严重的危害是通过垂直传播引起胎儿先天性感染**。易感性高的孕妇在孕期20周内感染风疹病毒对胎儿危害最大，病毒感染通过影响胎儿细胞的正常生长、有丝分裂和染色体结构等，引起流产或死胎，还可以导致先天性风疹综合征，如先天性心脏病、先天性耳聋、白内障等畸形，以及黄疸性肝炎、肺炎、脑膜脑炎等临床表现。风疹病毒自然感染后可获得持久免疫力，约95%以上的正常人血清中具有保护性抗体，孕妇血清中的抗体可以保护胎儿免受风疹病毒感染的作用。

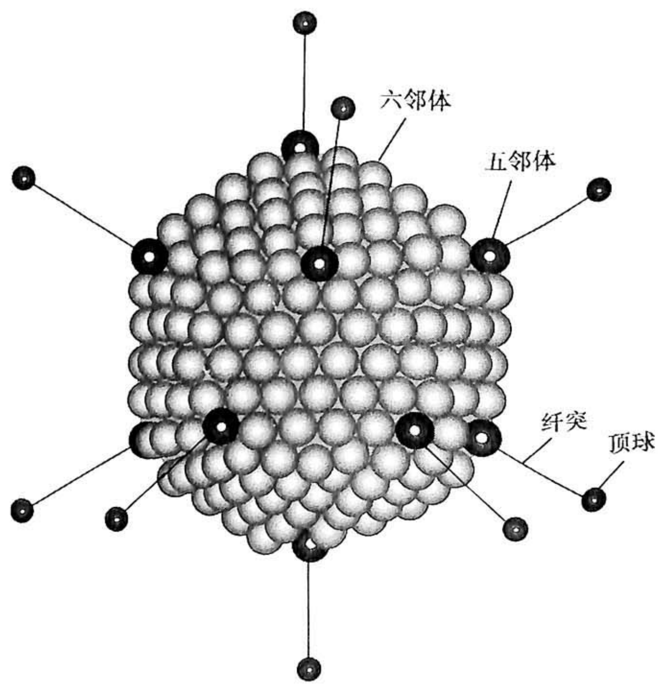
对孕妇感染风疹病毒进行早期诊断很重要，可以减少畸形儿的出生。常用的诊断方法有：①通过检测孕妇血液中的特异性IgM抗体进行早期诊断，或通过检测双份血清中病毒特异性抗体，若滴度呈4倍以上增高也可辅助诊断；②检测胎儿羊水或绒毛膜中的病毒抗原或病毒核酸等可以进行产前诊断；③取羊水、绒毛膜可进行病毒分离，用红细胞凝集抑制试验和免疫荧光试验进行病毒鉴定，但比较烦琐。目前，风疹病毒感染尚无有效的治疗方法。风疹减毒活疫苗接种是预防风疹的有效措施，通常以**麻疹-腮腺炎-风疹三联疫苗**形式联合使用。一般于出生后12~15个月和4~6岁时分别接种1次，可以获得高水平的抗体，并保持十数年以上或终身免疫。

二、腺 病 毒

腺病毒（adenovirus）属于腺病毒科（*Adenoviridae*）哺乳动物腺病毒属（*Mastadenovirus*）。腺病毒颗粒直径为60~90nm，无包膜；基因组为线状DNA，约3600bp；**衣壳呈二十面体立体对称**，由252个壳粒组成，其中240个壳粒是**六邻体**（hexon），有组特异性 α 抗原；位于二十面体顶端的12个壳粒组成**五邻体**（penton）。每个五邻体包括基底部分和伸出表面的一根末端有顶球的纤突；基底部分有组特异性 β 抗原和毒素样活性，可引起细胞病变；纤突蛋白包含型特异性 γ 抗原，与病毒凝集动物红细胞活性有关（图25-3）。对HeLa细胞和人胚原代细胞培养敏感，能引



A



B

图25-3 腺病毒电镜形态与结构模式图
A. 病毒形态，负染，×500 000，透射电镜；B. 病毒结构

笔记

起明显的细胞病变。耐温、耐酸、耐脂溶剂的能力较强，56℃ 30 分钟可被灭活。

人类腺病毒分为 A~G 共 7 组，42 个血清型；多数可以引起人类呼吸道、胃肠道、泌尿道及眼部感染等。**腺病毒主要通过呼吸道传播，3、7、11、21、14 型等主要引起婴幼儿肺炎和上呼吸道感染；其中 3 型和 7 型腺病毒为腺病毒肺炎的主要病原**。此外，3、7、14 型可以引起**咽结膜热**（pharyngoconjunctival fever，PCF），8、19、31 型可以引起**流行性角膜炎**（epidemic keratoconjunctivitis，EKC），40、41 型可以引起儿童病毒性胃肠炎。

腺病毒肺炎约占病毒性肺炎的 20%~30%，在北方多见于冬春两季，南方多见于秋季。由于缺乏腺病毒特异抗体，80% 的腺病毒肺炎发生于 6 个月至 2 岁的婴幼儿。潜伏期 3~8 天。多以急骤发热（39℃以上）、咳嗽、呼吸困难及发绀等呼吸道症状为主，有时出现嗜睡、惊厥、腹泻、结膜炎，甚至心力衰竭等。学龄前期与学龄期儿童的腺病毒肺炎的症状较轻，以持续高热为主。主要病理改变是灶性或融合性坏死性肺浸润和支气管炎，还伴有中枢神经系统及心脏的间质性炎症与小血管壁细胞增生反应。

根据流行情况和临床表现可初步诊断。用间接免疫荧光技术、酶联免疫吸附实验及特异性 IgM 测定可以进行快速诊断，但不能进行腺病毒分型。常规咽拭子病毒分离及双份血清抗体检查可用于回顾诊断。以对症治疗和抗病毒治疗为主。尚缺乏有效的抗病毒药物与疫苗。

三、鼻　病　毒

鼻病毒（rhinovirus）属于小 RNA 病毒科（Picornaviridae）鼻病毒属（*Rhinovirus*），具有与肠道病毒相似的结构、组成与生物学性状。但具有与肠道病毒不同的特点，包括：①鼻病毒需要在 33℃旋转培养条件下，于人胚肾、人胚二倍体细胞或人胚气管培养中增殖；②鼻病毒不耐酸，在 pH 3.0 时迅速被灭活。鼻病毒有 114 种血清型。二十面体立体对称的病毒颗粒由病毒单股正链 RNA 与 VP1~VP4 蛋白组成。细胞间黏附分子 -1（ICAM-1）是鼻病毒感染细胞的受体。

鼻病毒通常寄居于上呼吸道，可以**引起成人普通感冒以及儿童的上呼吸道感染、支气管炎等**。潜伏期为 24~48 小时，临床症状有流涕、鼻塞、头痛、咳嗽，体温升高不明显。多为自限性疾病，1 周左右可自愈。

鼻病毒感染后可产生呼吸道局部 sIgA，对同型病毒有免疫力，持续时间短。另外，多个型别的鼻病毒可发生抗原性漂移，因而可引起反复再感染。微生物学检查临床诊断意义不大。干扰素有一定治疗效果。

四、呼肠病毒

呼肠病毒（reovirus）属于呼肠病毒科（Reoviridae）呼肠病毒属（*Reovirus*）。病毒直径 60~80nm，基因组为 10 个节段的双链 RNA，外被二十面体立体对称的双层蛋白质衣壳，无包膜，有 3 个血清型。呼肠病毒对动物具有广泛的致病性，在人类主要引起无症状的感染，少数人可引起胃肠道疾病、上呼吸道疾病和神经系统疾病，较少数患者可能出现严重并发症。

（张凤民）

笔记

第二十六章　肠道病毒

肠道病毒(enterovirus)是指经消化道感染和传播、能在肠道中复制并引起人类相关疾病的胃肠道感染病毒(gastrointestinal infection virus)。本章讲述的肠道病毒虽然是经消化道感染,但引起的主要疾病却在肠道外,包括脊髓灰质炎、无菌性脑膜炎、心肌炎、手足口病等多种疾病,病毒分离主要来自人的咽喉部和肠道标本。

肠道病毒在分类学上归属于**小 RNA 病毒科**(Picornaviridae)的肠道病毒属,是一类生物学性状相似、颗粒非常小的**单正链** RNA **病毒**。人类肠道病毒主要包括了以下四种病毒:

1. **脊髓灰质炎病毒**(poliovirus)　分为 1、2、3 三个血清型。

2. **柯萨奇病毒**(coxsackievirus)　分为 A、B 两组,A 组包括 1~22 和 24 等 23 个血清型;B 组包括 1~6 等 6 个血清型。

3. **人肠道致细胞病变孤儿病毒**(enteric cytopathogenic human orphan virus,ECHO),**或简称埃可病毒**(echovirus)　包括 1~9,11~27,29~33 等 31 个血清型。

4. **新型肠道病毒**(new enteroviruses)　是 1969 年以后陆续分离到的肠道病毒,因难以继续采用最初的区分标准(表 26-1),故按其发现的顺序统一命名,包括 68、69、70 和 71 等血清型。

表 26-1　肠道病毒中不同种类病毒最初的区分标准

	对猴的致病性	对乳鼠的致病性	对猴和人培养细胞的致病性
脊髓灰质炎病毒	+	-	+
柯萨奇病毒	-	+	-
埃可病毒	-	-	+

注:根据对乳鼠的致病性的不同,柯萨奇病毒又可分为 A 和 B 两个组

另外,在小 RNA 病毒科中,与人类疾病有关的病毒除肠道病毒外,还有鼻病毒及甲型肝炎病毒。鼻病毒主要分离自人的鼻部和咽喉部标本,至少有 100 多个血清型,是引起人体普通感冒的主要病原体。甲型肝炎病毒以往归类为新肠道病毒 72 型,目前已归属为小 RNA 病毒科中的嗜肝病毒属(*Hepatovirus*)。

肠道病毒的共同特征:

1. 为**无包膜**的小 RNA 病毒,直径 24~30nm,衣壳为**二十面体立体对称**。基因组为**单正链** RNA(+ssRNA),长约 7.4kb,两端为保守的非编码区,中间为 P1、P2 和 P3 连续的开放读码框架。此外,5' 端共价结合一小分子蛋白质 VPg,与病毒 RNA 合成和基因组装配有关(图 26-1)。

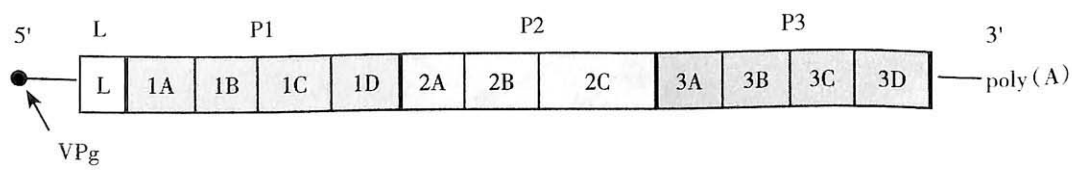


图 26-1　小 RNA 病毒基因结构模式图

2. 能在有相应病毒识别受体的易感细胞中增殖,迅速产生细胞病变(但柯萨奇病毒 A 组的某些型别,如 A1、A19 和 A22,只能在新生乳鼠中增殖)。

3. 对理化因素的抵抗力较强,在污水、粪便中能存活数月;对酸有一定抵抗力,pH 3.0~5.0 作用 1~3 小时还保持稳定;能耐受蛋白酶和胆汁的作用;对乙醚、热和去垢剂有一定抗性,1mol/L

笔记

$MgCl_2$ 或其他二价阳离子能明显提高病毒对热的抵抗力。

4. 主要经粪 – 口途径传播，以隐性感染多见。虽然这类病毒在肠道中增殖，却引起多种肠道外感染性疾病，如脊髓灰质炎、无菌性脑膜炎、心肌炎以及急性出血性结膜炎等。

第一节 脊髓灰质炎病毒

脊髓灰质炎病毒是**脊髓灰质炎**(poliomyelitis)的病原体，主要侵犯**脊髓前角运动神经细胞**，导致**急性弛缓性肢体麻痹**(acute flaccid paralysis，AFP)，患者以儿童多见，故亦称**小儿麻痹症**(infantile paralysis)。脊髓灰质炎病毒分为三个血清型，**各型间没有交叉免疫反应**，而 85% 左右的脊髓灰质炎患者均由 1 型病毒引起。通过相应疫苗接种可有效地预防脊髓灰质炎发生，WHO 已将其列为第二个在全球消灭的病毒感染性疾病。

一、生物学性状

（一）形态结构

脊髓灰质炎病毒具有典型的肠道病毒形态。病毒体呈**球形**，直径 28nm，衣壳呈**二十面体立体对称**，**无包膜**(图 26–2)。病毒衣壳由 60 个相同的壳粒组成，病毒结构蛋白 VP1、VP2 和 VP3 分布于衣壳表面，VP4 位于病毒衣壳内部。核心含有**单股**、**正链**、**非分节段的** RNA。

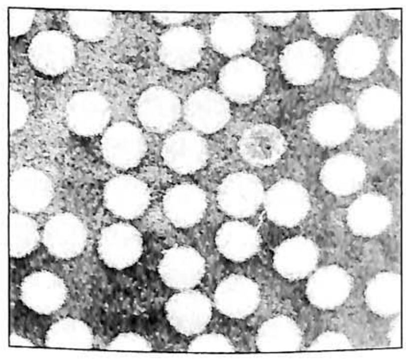


图 26–2 Ⅰ型脊髓灰质炎病毒电镜图(×594 000)

（二）基因组与编码蛋白

病毒基因组为**单正链** RNA，长约 7.4kb。基因组中间为连续**开放读码框架**，两端为保守的**非编码区**，非编码区与其他肠道病毒的同源性很高。此外，5′ 端共价结合一小分子蛋白质 Vpg(由 22~24 个氨基酸组成)，与病毒 RNA 合成和基因组装配有关；3′ 端带有 polyA 尾，与病毒的感染性有关。**病毒 RNA 进入细胞后，可直接作为** mRNA，翻译出一个约 2200 个氨基酸的大分子多聚蛋白(polyprotein)前体，然后经酶切后形成病毒结构蛋白 VP1~VP4 和各种功能性蛋白。功能性蛋白包括 2A~2C、3A~3D，其中至少含两个蛋白酶和一个依赖 RNA 的 RNA 聚合酶。脊髓灰质炎病毒还产生一种功能性蛋白，可降解真核细胞核糖体 200kD 帽结合蛋白，以此阻断细胞 mRNA 的翻译。

暴露在病毒衣壳表面的结构蛋白 VP1、VP2 和 VP3，带有可诱生中和抗体的抗原表位，诱生的抗体还可用于对病毒的分型。VP1 与病毒吸附有关，而位于衣壳内部的 VP4 则在病毒 VP1 与细胞表面受体结合后才被释出，使病毒衣壳随之松动并脱壳，有利病毒基因组穿入细胞。脊髓灰质炎病毒在细胞浆中进行生物合成，装配成完整的病毒体后，通过细胞裂解方式释放。

（三）抵抗力

与其他肠道病毒一样，**脊髓灰质炎病毒对理化因素的抵抗力较强**。在污水和粪便中病毒可存活数月，在胃肠道中能耐受胃酸，蛋白酶和胆汁的作用。脊髓灰质炎病毒对热、干燥较敏感，紫外线和 55℃湿热条件下可迅速灭活病毒。含氯(0.1ppm)消毒剂如次氯酸钠、二氧化氯等对脊髓灰质炎病毒有较好的灭活效果；有机物对病毒有保护作用，对有机物中的病毒灭活时需要提高消毒剂的浓度。

二、致病性与免疫性

（一）致病性

传染源是**脊髓灰质炎患者或无症状带毒者**。主要通过**粪 – 口途径传播**，夏秋季是主要流行

笔记

季节，1~5 岁儿童为主要易感者，潜伏期一般为 7~14 天。

病毒以**上呼吸道、口咽和肠道黏膜**为侵入门户，先在局部黏膜和咽、扁桃体等淋巴组织和肠道集合淋巴结中增殖，释放入血形成**第一次病毒血症**，扩散至带有受体的靶组织，在淋巴结、肝、脾的网状内皮细胞中再次增殖并释放进入血液，导致**第二次病毒血症**。在少数感染者，病毒可以侵入**中枢神经系统**，感染脊髓前角运动神经元，脑干和脑膜组织等。脊髓灰质炎病毒识别的受体为免疫球蛋白超家族的**细胞黏附分子**(ICAM) ——CD155，人体内只有很少的细胞能表达这种受体，如脊髓前角细胞、背根节细胞、运动神经元、骨骼肌细胞和淋巴细胞等，因而限制了脊髓灰质炎病毒感染的宿主细胞范围。脊髓灰质炎病毒引起宿主细胞的**杀细胞效应**，所以细胞的损伤是由病毒的直接作用所造成的，患者**由于运动神经元损伤而导致肌肉瘫痪**。

脊髓灰质炎病毒感染人体后，机体免疫力的强弱明显影响其感染的结局。至少 90% 的感染者表现为**隐性感染**；约 5% 的感染者发生**顿挫感染**，只出现发热、头痛、乏力、咽痛和呕吐等非特异性症状，并迅速恢复；约 1%~2% 的感染者因病毒侵入中枢神经系统和脑膜，产生**非麻痹型脊髓灰质炎**或**无菌性脑膜炎**，出现颈背强直、肌痉挛等症状。只有 0.1%~2.0% 的感染者产生最严重的结局，包括暂时性肢体麻痹或**永久性弛缓性肢体麻痹**，其中以下肢麻痹多见；极少数患者发展为**延髓麻痹**，导致呼吸、心脏衰竭而死亡。脊髓灰质炎流行期间，进行扁桃体摘除、拔牙等手术或其他各种疫苗接种等，均可增加麻痹病例的发生。另外，成人感染脊髓灰质炎病毒的病情往往比儿童感染者严重。

由于有效的**脊髓灰质炎疫苗**的广泛推广和使用，脊髓灰质炎病毒野毒株所致的感染已显著减少，现已仅见于印度等少数国家；但**疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎**(vaccine-associated paralytic poliomyelitis，VAPP)病例在全世界每年都有发生，应引起足够的重视。疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎主要由疫苗中毒力恢复的 2 型和 3 型病毒引起，患者以免疫功能低下的人群多见。此外，还需警惕**疫苗衍生脊髓灰质炎病毒**(vaccine-derived poliovirus，VDPV)的局部暴发流行。

(二) 免疫性

人体被脊髓灰质炎病毒感染后，患者可获得长期而**牢固的型特异性免疫**，主要以体液免疫的**中和抗体**为主。中和抗体在感染早期，常在临床症状出现前就已产生。**黏膜局部的 sIgA** 可阻止病毒在咽喉部、肠道内的吸附，阻断病毒经粪便排出播散。**血清中和抗体 IgG、IgM** 可阻止病毒侵入中枢神经系统。血液中 IgG 抗体可经胎盘由母亲传给胎儿，故出生 6 个月以内的婴儿较少发病。

三、微生物学检查法

(一) 病毒分离与鉴定

取粪便标本经抗生素处理后，接种于原代猴肾细胞或人源性传代细胞。病毒在细胞质中复制，培养 7~10 天后出现典型的细胞病变，再用中和试验进一步鉴定病毒的血清型别。

(二) 血清学试验

取患者发病早期和恢复期双份血清做中和试验检测血清中的抗体效价，若恢复期血清特异性抗体效价有 4 倍或以上增长，则有诊断意义。亦可检测血清中特异性 IgM 抗体。

(三) 快速诊断

用核酸杂交、PCR 等分子生物学方法，可检测患者咽拭子、粪便等标本中的病毒基因组的存在而进行快速诊断。同时可根据毒株核苷酸组成或序列的差异，或酶切位点的不同等来区别脊髓灰质炎病毒的疫苗株与野毒株。

四、防 治 原 则

笔记

自 20 世纪 50 年代中期以来，**灭活脊髓灰质炎疫苗**(inactivated polio vaccine，IPV，Salk vaccine)

和口服脊髓灰质炎减毒活疫苗(live oral polio vaccine,OPV,Sabin vaccine)相继问世并得以广泛应用,使脊髓灰质炎发病率急剧下降,绝大多数发达国家已消灭了脊髓灰质炎**野毒株**。1998 年我国就已经没有发现野毒株,2001 年 10 月,WHO 宣布我国为亚太地区消灭脊髓灰质炎的第二批国家之一。但在非洲、中东和亚洲的少数发展中国家仍有野毒株的存在,因此疫苗主动免疫仍需继续加强,以尽早实现 WHO 提出的在全球消灭脊髓灰质炎的目标。

目前,IPV 和 OPV 都是**三型脊髓灰质炎病毒的混合疫苗**,免疫后都可获得针对三个血清型病毒的保护性抗体。OPV **口服免疫类似自然感染,既可诱发血清抗体,预防麻痹型脊髓灰质炎的产生,又可刺激肠道局部产生 sIgA,阻止野毒株在肠道的增殖和人群中的流行**。此外,口服 OPV 后,病毒会在咽部存留 1~2 周,并从粪便中排出达数周,而疫苗病毒的传播可使接触者产生间接免疫。我国自 1986 年起实行卫生部颁布的免疫程序,即 2 月龄开始连服三次 OPV,每次间隔一个月;4 岁时加强一次的免疫程序,可形成和保持持久免疫力。IPV 通过肌内注射接种,具有接种剂量大、不能产生肠道局部免疫、使用不方便等缺点,使其曾一度被 OPV 所代替。但目前改进的增效 IPV 可使 99%~100% 接种者产生针对三型病毒的抗体,也能诱导低水平的黏膜免疫。芬兰、法国、荷兰、挪威、瑞典等国使用 IPV 后已经控制并消灭了脊髓灰质炎,足以证明 IPV 的有效性。

由于 OPV 热稳定性差,保存、运输、使用要求高,还有病毒**毒力回复**的可能,特别是近年部分国家发生了 VAPP。因此,新的免疫程序建议首先使用 IPV 免疫两次,然后再口服 OPV 进行全程免疫,可消除或降低 VAPP 发生的危险。

第二节 柯萨奇病毒、埃可病毒

柯萨奇病毒(coxsackievirus)和**埃可病毒**(echovirus)的形态、生物学性状以及感染、免疫过程与脊髓灰质炎病毒相似。由于柯萨奇病毒对乳鼠的致病特点和对细胞培养的敏感性不同,可将其分为 A、B 两组。A 组病毒引起肌肉松弛型麻痹,多数不能在培养细胞中生长;B 组病毒引起肌肉痉挛型麻痹,能在多种培养细胞中生长。柯萨奇病毒和埃可病毒的**型别很多**,相应的病毒受体在组织和细胞中分布广泛(包括中枢神经系统、心、肺、胰、黏膜、皮肤等),因而引起的疾病谱复杂。这些病毒主要通过**粪 - 口途径**传播,但也可经呼吸道或眼部黏膜感染。**其致病的显著特点是病毒在肠道中增殖却很少引起肠道疾病;不同的肠道病毒可引起相同的临床综合征**,如散发性脊髓灰质炎样麻痹症、无菌性脑膜炎、脑炎、呼吸道感染等;**同一种病毒也可引起几种不同的临床疾病**,相关内容的总结见表 26-2。

表 26-2 肠道病毒感染的临床表现和常见的病毒型别

临床表现	脊髓灰质炎病毒	柯萨奇病毒	埃可病毒	新型肠道病毒
麻痹症	1~3	A7,9;B2~5	2,4,6,9,11(可能 1,7,13,14,16,18,31)	70,71
无菌性脑膜炎	1~3	A2,4,7,9,10;B1~6	1~11,13~23,25,27,28,30,31	70,71
无菌性脑炎		B1~5	2,6,9,19(可能 3,4,7,11,14,19,20)	70,71
疱疹性咽峡炎		A2~6,8,10		
手足口病		A5,10,16		71
皮疹		A4,5,6,9,16;B5	2,4,6,9,11,16,18(可能 1,3,5,7,12,14,19,20)	

笔记

续表

临床表现	脊髓灰质炎病毒	柯萨奇病毒	埃可病毒	新型肠道病毒
流行性胸痛		A9；B1~5	1,6,9	
心肌炎，心包炎		A4,16；B1~5	1,6,9,19	
急性结膜炎		A24		
急性出血性结膜炎				70
感冒		A21,24；B4,5	4,9,11,20,25(可能1~3,6~8,16,19,22)	
肺炎		A9,16；B4,5		68
腹泻		A18,20,21,22,24	18,20	
肝炎		A4,9；B5	4,9	
发热	1~3	B1~6		
新生儿全身感染		B1~5	3,4,6,9,17,19	
糖尿病		B3,4,5		
病毒感染后疲劳综合征		B组		

由于柯萨奇病毒和埃可病毒的生物学性状相似，所以下面主要介绍它们所致疾病的特点。

1. **无菌性脑膜炎**(aseptic meningitis) 几乎所有的肠道病毒都与**无菌性脑膜炎、脑炎和轻瘫**有关。无菌性脑膜炎表现为发热，头痛和脑膜刺激症状。肠道病毒性脑膜炎几乎每年夏秋季均有发生，而且有些型别(如埃可病毒3、11、18、19型，新肠道病毒71型)所致的病毒性脑膜炎曾引起过暴发性流行。

2. **疱疹性咽峡炎**(herpangina) 主要由**柯萨奇A组病毒**某些血清型引起，夏秋季多见，主要为1~7岁儿童。典型的症状是为发热、咽痛，在软腭、悬雍垂周围出现水疱性溃疡损伤。

3. **手足口病**(hand-foot-mouth disease，HFMD) 主要由**柯萨奇病毒**A16和**新肠道病毒71型**(EV71)引起，而EV71曾引起过多次大流行，其重症率和病死率均高于柯萨奇病毒A16所致的HFMD。手足口病的特点为手足臀部皮肤的皮疹和口舌黏膜溃疡等，可伴有发热。患者以5岁以下小儿多见，流行季节多见于夏秋季(详见本章第三节)。

4. **流行性胸痛**(pleurodynia) 通常由**柯萨奇B组病毒**引起，症状为突发性发热和单侧胸痛，胸部X线检查多无异常。散发性胸痛也可由其他肠道病毒引起。

5. **心肌炎**(myocarditis)**和心包炎**(pericarditis) 心肌炎和心包炎主要由**柯萨奇B组病毒**引起，散发流行于成人和儿童，但**新生儿患病毒性心肌炎病死率高**。病毒通过直接作用和免疫病理机制而引起心肌细胞的损伤。多数患者一般先有短暂的发热、感冒症状，继而出现心脏病的相应症状。

6. **眼病** 见于由**柯萨奇病毒**A24型引起的**急性结膜炎**(acute conjunctivitis)和**新肠道病毒**70型引起的**急性出血性结膜炎**(acute hemorrhage conjunctivitis)。

此外，肠道病毒感染还可能与病毒感染后疲劳综合征、1型糖尿病等相关。

柯萨奇病毒和埃可病毒感染人体后，可以刺激机体产生型特异性的保护性抗体，形成**针对同型病毒的免疫力**。

由于这类肠道病毒所致疾病的临床症状具有多样性，因此仅根据临床表现不能对病因作出诊断，**确诊必须有赖于微生物学检查**。标本可采取患者的咽拭子、粪便、脑脊液、心包液等。除柯萨奇A组病毒的少数几个型别必须在乳鼠中增殖外，其余病毒均可在易感细胞中增殖，产生

笔记

典型的细胞病变。一般是先用细胞培养分离到病毒后，再用中和试验进行鉴定和分型，这也是鉴定肠道病毒的常用方法，但敏感性较低。也可采用单克隆抗体建立的间接免疫荧光法检测病毒抗原，RT–PCR 技术检测病毒核酸等进行快速诊断。

目前尚无有效的疫苗用于预防，也没有特效的治疗药物。

第三节 新型肠道病毒

新型肠道病毒（new enteroviruses）是指 1969 年以后陆续分离到的肠道病毒，并按其发现的顺序统一命名，目前包括有 68、69、70 和 71 型等多种血清型。这些病毒与其他肠道病毒有相似的形态、结构、基因组及理化特性，也可以在猴肾细胞中培养，但在抗原性方面，它们与脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒和埃可病毒有着明显的不同。新型肠道病毒主要经粪－口途径传播，引起多种神经系统疾病以及机体其他部位的疾病。

一、肠道病毒 68 型、69 型

肠道病毒 68 型是从呼吸道感染患儿的标本中分离获得，主要与儿童毛细支气管炎和肺炎有关。

肠道病毒 69 型是从健康儿童的直肠标本中分离得到，其致病性目前尚不清楚。

二、肠道病毒 70 型

肠道病毒 70 型（EV70）不能感染肠道黏膜细胞，但可以直接感染眼结膜，是人类**急性出血性结膜炎**（acute hemorrhagic conjunctivitis）主要的病原体。EV70 复制的最适温度为 33~35℃。急性出血性结膜炎俗称“红眼病”，非洲和东南亚等地是该病最早的流行地区，现在世界各地均有报道。急性出血性结膜炎以点状或片状的突发性结膜下出血为特征，主要通过接触传播，传染性较强，患者以成人多见。该病的潜伏期为 1~2 天，临床病程约 1~2 周；在疾病的早期容易从结膜中分离到病毒。治疗以对症处理为主，干扰素滴眼液有较好的治疗效果。

三、肠道病毒 71 型

肠道病毒 71 型（EV71）是 1969 年首次从加利福尼亚患中枢神经系统疾病的婴儿粪便标本中分离到的，此后在世界范围内都有了 EV71 流行的报道。

EV71 的生物学性状与其他肠道病毒相似，其基因组全长约 7.4kb，为单股正链 RNA，含有丰富的腺嘌呤核苷酸和尿嘌呤核苷酸。基因组中仅有一个开放阅读框架，编码含 2194 个氨基酸的多聚蛋白。根据病毒衣壳蛋白 VP1 核苷酸序列的差异，可将 EV71 分为 A、B、C 三个基因型，B 和 C 型各自包括五个亚型（B1~B5 和 C1~C5）。A 型多流行于美国，B 型和 C 型呈全球分布。目前已经鉴定出该病毒的两种受体，即人类清道夫受体 B2（Scavenger receptor B2，SCAR–B2）和 P 选择素的糖蛋白配体 1（P–selectin glycoprotein ligand–1，PSGL–1，CD162）。病毒受体广泛分布于白细胞、内皮细胞和神经细胞表面，因而 EV71 感染**常累及中枢神经系统**，所以其感染具有**较高的重症率和病死率**。

EV71 是一种引起人类中枢神经系统感染的重要病原体，可引起疱疹性咽峡炎、无菌性脑膜炎、脑干脑炎及类脊髓灰质炎等多种疾病，严重感染者可引起死亡。另外，EV71 还可引起**手足口病**的暴发流行，而且**是我国近年来手足口病的主要病原之一**，并呈持续流行状态，已经成为我国严重的公共卫生问题之一，被列入丙类传染病。HFMD 是一种急性传染病，传染源为 HFMD 患者和隐性感染者，通过消化道、呼吸道和密切接触等途径传播。感染多发于学龄前儿童，尤以 3~5 岁以下年龄组发病率最高。患者的主要临床表现为发热及手、足、臀等部位皮肤的斑丘疹或

笔记

疱疹，常伴有口腔黏膜溃疡。机体被 EV71 感染后，可以诱生抗 VP1 的特异性中和抗体。

EV71 是所有肠道病毒中难以鉴别的病毒之一，因为其所致的中枢神经系统疾病与脊髓灰质炎病毒类似，而引起的 HFMD 难与柯萨奇病毒 A16 区分。EV71 的常规微生物学检查方法包括病毒分离培养、血清学检测以及病毒核酸检测，其中 RT-PCR 方法检测标本中的 EV 71 的 RNA，具有快速、简单、敏感性高等优点，是目前比较常用的检测方法。

EV71 的分离培养虽具有费力、烦琐、耗时长、不能满足早期诊断要求等缺点，但它是病原学研究的重要基础，所以在 EV71 研究中它仍具有主要作用。常用的培养细胞有 Vero 细胞、RD 细胞(横纹肌肉瘤细胞)。病毒液或患者标本接种 RD 细胞 3 天后，可逐渐观察到 RD 细胞变圆、分散、胞浆内颗粒增加、细胞从瓶壁脱落等现象(图 26-3)。也可用敏感的实验动物进行病毒培养和分离，常用 1~3 日龄的 ICR 乳鼠进行。EV71 经腹腔途径感染乳鼠后，小鼠出现精神萎靡、肢体麻痹瘫痪、消瘦、死亡等现象，并可在病变最明显的脑组织中分离到病毒或检测到病毒 RNA。

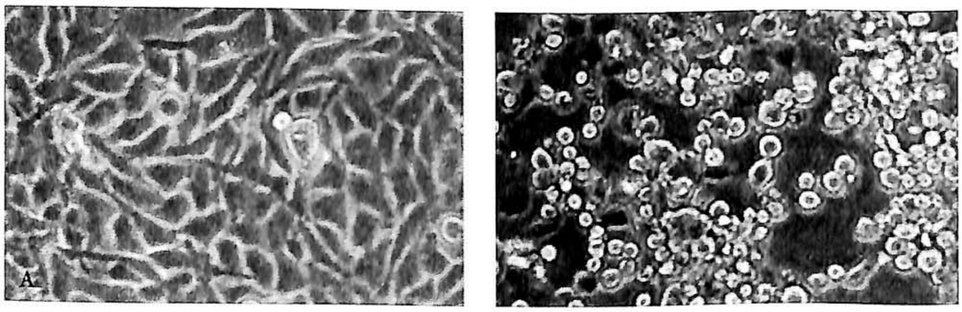


图 26-3 EV71 在 RD 细胞中所致的细胞病变效应
A. 正常细胞对照；B. 细胞病变效应
(彭宜红教授提供，×200)

目前尚**无安全有效的疫苗来预防 EV71 感染**，亦无特效的抗病毒药物和特异性治疗手段，一般都采用常规的抗病毒和对症处理的方法。多数患者一周左右痊愈，但重症患者需住院治疗，而且要密切注意病情变化，可减少患儿的死亡。

(李明远)

笔记

第二十七章　急性胃肠炎病毒

急性胃肠炎病毒(acute gastroenteritis virus)是指经消化道感染和传播、主要引起急性肠道内感染性疾病的胃肠道感染病毒，其感染所致疾病的主要临床表现为腹泻、呕吐等症状，病毒分离自粪便标本。急性胃肠炎病毒包括**轮状病毒、杯状病毒、星状病毒和肠道腺病毒**(表 27-1)。这些病毒虽然基因组各异，并分别属于不同的病毒科，但它们所致的急性胃肠炎的临床表现却很相似，均以**腹泻和呕吐**症状为主。不同的急性胃肠炎病毒感染的**流行方式**明显不同，大致分为两类：**一类是引起 5 岁以内的小儿腹泻，另一类是引起与年龄无关的暴发流行**。

表 27-1　急性胃肠炎病毒的分类及其所致疾病

病毒名称	大小(nm)	核酸类型	主要引起的疾病
轮状病毒		双链 RNA	
A 组	70		流行性婴幼儿严重腹泻，是最常见的病原体
B 组	70		儿童和成人腹泻(仅见于中国)
C 组	70		散发性儿童腹泻
杯状病毒	27~38	单正链 RNA	散发性婴幼儿和儿童腹泻
星状病毒	28~30	单正链 RNA	散发性婴幼儿和儿童腹泻
肠道腺病毒	70~80	双链 DNA	流行性婴幼儿严重腹泻，是第二位常见的病原体

第一节　轮 状 病 毒

轮状病毒(rotavirus)是因为电镜下的病毒颗粒形态酷似"车轮状"而被命名的。1973 年，澳大利亚学者 Bishop 等在儿童急性非细菌性胃肠炎的研究报告中对病毒进行了详细描述；1974 年，Flewett 通过电子显微镜首次观察到该病毒颗粒并命名；1978 年，该命名得到国际病毒分类委员会的正式认可；1983 年，我国学者发现了成人腹泻轮状病毒(adult diarrhea rotavirus)。轮状病毒在分类学上归属于**呼肠病毒科**(Reoviridae)，是引起人类、哺乳动物和鸟类腹泻的重要病原体。依据病毒结构蛋白 VP6 的抗原性，将轮状病毒分为 A~G **7 个组**，其中 **A 组轮状病毒**是世界范围内**婴幼儿重症腹泻**最常见的病原体，也是婴幼儿死亡的主要原因之一；**B 组轮状病毒**引起**成人腹泻**，病死率低。

一、生物学性状

1. **形态**　轮状病毒颗粒为**球形**，直径 60~80nm。病毒衣壳呈 **20 面体立体对称，具有内外双层衣壳，无包膜**。负染后在电镜下观察，**病毒外形酷似"车轮状"**(图 27-1)。

2. **基因组及其编码的蛋白质**　病毒核心含有病毒核酸和依赖 RNA 的 RNA 多聚酶。**病毒基因组为双链** RNA，由 11 **个基因片段**(segment)组成，总长约 18.5kb。每个片段含一个开放读码框架(ORF)，分别编码 6 种结构蛋白(VP1~VP4、VP6、VP7)和 6 种非结构蛋白(NSP1~NSP6)。VP1~VP3 位于核心，分别为病毒依赖 RNA 的 RNA 多聚酶，转录酶成分和与帽状 RNA 转录子形成有关的蛋白。VP4 和 VP7 位于外衣壳，决定病毒的血清型。VP4 为病毒的血凝素，对蛋白酶敏感，与病毒吸附到易感细胞表面有关，是中和抗原；VP7 为表面糖蛋白，亦为重要的中和抗原。

笔记

VP6位于内衣壳，占病毒总蛋白的51%，其抗原性具有组和亚组特异性。VP4蛋白可以被胰蛋白酶裂解成VP5和VP8，从而增强病毒的感染性。

轮状病毒的非结构蛋白为功能性酶或调节蛋白，在病毒复制和致病性中发挥着重要作用，如NSP1、NSP2是核糖核酸结合蛋白；NSP4就是病毒性肠毒素，与引起腹泻症状有关。

轮状病毒基因组片段在**聚丙烯酰胺凝胶电泳**中由于迁移率的不同而形成**特征性的电泳图谱**，不同轮状病毒的电泳图谱不同，据此可对轮状病毒进行快速鉴定（图27-2）。

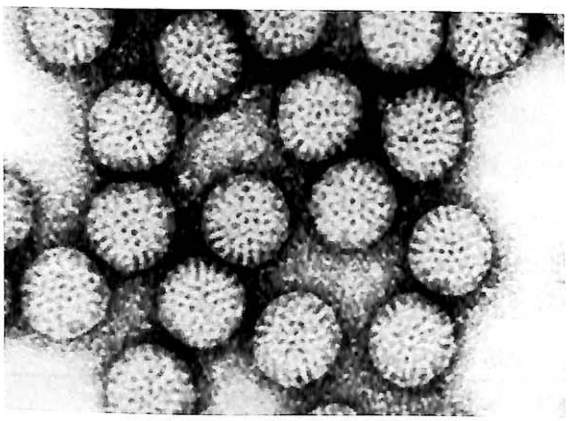


图27-1 轮状病毒电镜图（McCrae教授提供）

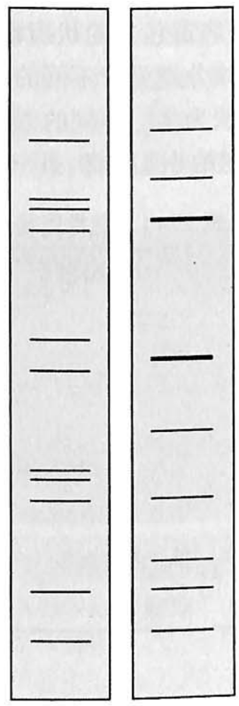


图27-2 轮状病毒RNA片段电泳示意图
A：人A组轮状病毒；B：人B组轮状病毒

3. **分组与分型** 根据内衣壳蛋白VP6的抗原性，将轮状病毒分为A~G**七个组**，其中A组轮状病毒还可根据VP6蛋白的差异再分为四个亚组（Ⅰ、Ⅱ、Ⅰ+Ⅱ、非Ⅰ非Ⅱ）。另外，根据A组轮状病毒VP7抗原的不同，可将其分为14个G血清型（亦称VP7血清型）；根据其VP4抗原的不同，将其分为19个P血清型（亦称VP4血清型）。

4. **抵抗力** 轮状病毒**对理化因素有较强的抵抗力**，耐酸、耐碱，能在pH 3.5~10的环境中存活。耐乙醚，三氯甲烷和反复冻融。55℃ 30分钟可被灭活。但在室温下相对稳定，在粪便中可存活数天到数周。经胰酶作用后，VP4裂解成VP5和VP8，可增强病毒的感染性。

二、致病性与免疫性

轮状病毒流行呈世界性分布，A~C组轮状病毒能引起人类和动物腹泻，D~G组病毒只引起动物腹泻。全世界每年约有60多万名儿童死于轮状病毒感染所致的严重腹泻，主要分布在发展中国家。

A组轮状病毒感染最为常见，是引起**6个月~2岁婴幼儿严重胃肠炎**的主要病原体，占病毒性胃肠炎的80%以上，是导致婴幼儿死亡的主要原因之一，年长儿童和成人常呈无症状的隐性感染。

传染源是**患者和无症状带毒者**，主要通过**粪-口途径传播**，也可通过呼吸道传播。轮状病毒腹泻多发于深秋和初冬季节，在我国常被称为**"秋季腹泻"**。

轮状病毒经胃肠道侵入人体后，在小肠黏膜绒毛细胞内增殖，10~12小时内即可产生大量子代病毒并释放到肠腔内感染其他的细胞。感染造成小肠上皮细胞微绒毛萎缩、脱落和细胞溶解

笔记

死亡，使肠道吸收功能受损；病毒**非结构蛋白 4（NSP4）有肠毒素样的作用**，可刺激细胞内钙离子升高引发肠液过度分泌，水和电解质分泌增加，重吸收减少，出现严重腹泻。

轮状病毒腹泻的潜伏期为 24~48 小时，表现为突然发病，发热、水样腹泻、每日可达 5~10 次以上，伴呕吐，一般持续 3~8 天。轮状病毒感染多为自限性，可完全恢复。病情严重者可出现脱水和酸中毒，若不及时治疗，可导致患儿死亡，死亡的主要原因是严重脱水和电解质紊乱。儿童营养不良，可使疾病更加严重。据统计在发展中国家，每年约有 50 万名儿童因轮状病毒感染的腹泻而死亡。

B 组轮状病毒引起成人腹泻，可产生暴发流行，但至今仅在我国有过报道。1982—1983 年，B 组轮状病毒在我国东北、西北矿区青壮年工人中引发了大规模霍乱样腹泻流行，患者达数十万人之多。

C 组轮状病毒对人的致病性类似 A 组，但发病率很低，多呈散发流行。

轮状病毒感染后机体可诱生**型特异性抗体**，包括 IgM、IgG 和 sIgA 类抗体，对同型病毒感染有保护作用，其中肠道 sIgA 最为重要。诱生的抗体对其他型别的轮状病毒只有部分保护作用，加上婴幼儿免疫系统发育尚不完善，sIgA 含量低，所以婴幼儿病愈后还可重复感染。抗轮状病毒的细胞免疫具有交叉保护作用。

三、微生物学检查法

1. 检测病毒颗粒或病毒抗原　由于在腹泻高峰时，患者粪便中存在大量病毒颗粒（一般可达 10^{10}/g 粪便），取粪便作**直接电镜**或**免疫电镜检查**，容易检出轮状病毒颗粒。采用放射免疫技术、直接或间接 ELISA 方法可检测粪便上清液中的轮状病毒抗原，具有较高的敏感性和特异性，还可对病毒进行分型。

2. 病毒核酸检测　从粪便标本中提取病毒 RNA，进行聚丙烯酰胺凝胶电泳，根据轮状病毒 11 个基因片段特殊分布图形进行分析判断（图 27-2），在临床诊断和流行病学调查中具有重要意义。RT-PCR 方法检测病毒核酸不仅灵敏度高，还可设计不同引物进行 G、P 血清型别的鉴定。

3. 病毒的分离培养　轮状病毒可在原代猴肾细胞，传代猴肾上皮细胞 MA-104 中增殖，胰酶预处理病毒或标本后可加强病毒对细胞的感染性。但因病毒培养过程复杂，较少用于轮状病毒感染的临床诊断。

四、防 治 原 则

对轮状病毒感染的预防以控制传染源和切断传播途径为主，其中消毒污染物品和加强洗手环节都是重要措施。**口服减毒活疫苗**目前已进入临床试验阶段，该疫苗可刺激机体产生特异性抗体，取得了有效的保护效果，但安全性尚需进一步观察。治疗主要是及时输液，补充血容量，纠正电解质紊乱等支持疗法，以减少婴幼儿的病死率。

第二节　杯 状 病 毒

杯状病毒（calicivirus）颗粒呈**球形**，直径约 27~38nm。杯状病毒基因组为**单正链 RNA 病毒**，长度约 7.3~7.7kb；衣壳呈**二十面体立体对称，无包膜**。引起**人类急性病毒性胃肠炎**的人杯状病毒（human calicivirus，HuCV）主要包括两个属：**诺如病毒**（Norovirus，NV）和**沙波病毒**（Sapovirus，SV），是除轮状病毒外病毒性腹泻的主要病原体之一。

诺如病毒以往被称为小圆状结构病毒（small round structure virus，SRSV），其原型（prototype）病毒为**诺瓦克病毒**（Norwalk virus）。诺瓦克病毒是 1972 年在美国 Norwalk 地区一所小学暴发流行的急性胃肠炎患者粪便中首次发现的病原体，故名；1993 年被归类于杯状病毒。

笔记

诺如病毒的基因和抗原性呈高度多样性，依据病毒 RNA 聚合酶和衣壳蛋白的核苷酸序列，目前将其分为 GⅠ、GⅡ、GⅢ、GⅣ和 GⅤ 5 个基因组(genogroup)，进一步还可分为多个不同的基因型及不同的变异株。感染人的杯状病毒至今尚不能人工培养，也没有动物模型。病毒对热、乙醚和酸稳定，60℃ 30 分钟仍有感染性。

诺如病毒是全球引起急性病毒性胃肠炎暴发流行的主要病原体之一，在美国约有 85% 以上的急性非细菌性胃肠炎的暴发与诺如病毒有关，我国也有暴发流行的报道。诺如病毒急性胃肠炎的高发季节为**秋冬季，可累及任何年龄组。患者、隐性感染者及健康带毒者均可为传染源。粪-口为主要传播途径**，也可通过呕吐物的气溶胶传播。诺如病毒传染性强，人群普遍易感；在人口聚集的学校、幼儿园、医院等场所容易引起暴发流行，从而成为突发公共卫生问题。诺如病毒感染后引起小肠绒毛轻度萎缩和黏膜上皮细胞的破坏。诺如病毒感染的潜伏期约 24~48 小时，然后突然发病，恶心、呕吐、腹痛和水样腹泻。多数感染者呈自限性，预后较好，无死亡发生。感染后可诱生抗诺如病毒抗体，但该抗体的保护作用不明确。

沙波病毒以往也被称为“典型杯状病毒”(classic calicivirus)，其形态特点是其表面有典型的杯状凹陷，棱高低不平。该病毒还被称为“札幌病毒”，因为日本学者 Chiba 等 1977 年在札幌某托儿所腹泻患儿的研究中证实，此病毒为引起该托儿所腹泻暴发的病原体。然后被国际病毒分类委员会归类为沙波病毒。沙波病毒主要引起 5 岁以下**小儿腹泻**，但发病率很低，其临床症状类似轻型的轮状病毒感染。

在发病急性期(48~72 小时)采集标本，通过免疫电镜可从粪便中浓缩和查见病毒颗粒。目前诺如病毒的 ELISA 检测方法已经建立，既可检测标本中的病毒颗粒和病毒抗原，也可检测患者血清中特异性抗体。杯状病毒核酸检测可采用核酸杂交技术和 RT-PCR 方法。迄今为止，尚无有效疫苗，治疗上也多是对症处理。

第三节 星 状 病 毒

星状病毒(astrovirus)包括哺乳动物星状病毒属(*Mamastrovirus*)和禽星状病毒属(*Avastrovirus*)，主要引起哺乳类和鸟类腹泻。**人星状病毒**是 1975 年从腹泻的婴儿粪便中分离得到的，病毒颗粒呈**球形**，直径 28~30nm，**无包膜**，电镜下**表面结构呈星形**，有 5~6 个角。核酸为**单正链** RNA，长约 6.4~7.4kb，两端为非编码区，中间为三个重叠的开放读码框架。在有胰酶存在的条件下，星状病毒可在某些培养细胞(如大肠癌细胞)中生长并产生细胞病变作用(CPE)。**人星状病毒至少有 8 个血清型**。

人星状病毒感染呈世界性分布，经粪-口途径传播，主要引起**婴幼儿腹泻**。在温带地区，冬季为流行季节，但发病率只占病毒性腹泻的 2.8%，患者以儿童和老年人为主。

人星状病毒侵犯十二指肠黏膜细胞，并在其中大量增殖，造成细胞死亡裂解，将病毒释放于肠腔中。在感染的急性期，每克粪便中病毒颗粒可达 10^{10}，是导致星状病毒医院感染的重要原因。星状病毒胃肠炎的临床表现类似于轮状病毒胃肠炎，但症状较轻。感染后可产生有保护作用的抗体，免疫力较牢固。目前尚无有效疫苗和治疗药物。

第四节 肠道腺病毒

肠道腺病毒(enteric adenovirus，EAd)是指主要引起急性胃肠炎的腺病毒，其中 40、41、42 三型腺病毒已经被证实可引起消化道感染，而且是引起**婴儿病毒性腹泻**的第二位病原体。因腹泻而住院治疗的患儿中，大约有 15% 是由肠道腺病毒引起的。

笔记

肠道腺病毒归属于人类腺病毒 F 组，其形态结构、基因组成、复制特点、与其他腺病毒基本

一致。**基因组为双链 DNA，衣壳为二十面体立体对称，病毒体大小为 70~80nm，无包膜**。肠道腺病毒在通常用于分离腺病毒的细胞中不能增殖，但可以在用腺病毒 5 型 DNA 转染的人胚肾细胞 Graham 株中增殖，所以该细胞常用于肠道腺病毒的分离；我国学者应用 A549 细胞分离肠道腺病毒 40 型亦获得成功。

世界各地均有小儿腺病毒急性胃肠炎的报告。病毒主要经**粪－口传播**，也可**经呼吸道传播**。四季均可发病，以夏季多见，并可引起暴发流行。腺病毒急性胃肠炎主要侵犯 5 岁以下小儿，引起水样腹泻，可伴有咽炎、咳嗽等呼吸道症状，发热及呕吐症状较轻。通过检查病毒抗原、核酸及血清抗体可以进行微生物学诊断。目前尚无有效疫苗和特别的抗病毒治疗方法，主要采取对症治疗。

（李明远）

笔记

第二十八章 肝炎病毒

肝炎病毒是指一类主要侵犯肝脏并引起病毒性肝炎的病毒。目前已证实的人类肝炎病毒有5种，即**甲型肝炎病毒**(hepatitis A virus, HAV)、**乙型肝炎病毒**(hepatitis B virus, HBV)、**丙型肝炎病毒**(hepatitis C virus, HCV)、**丁型肝炎病毒**(hepatitis D virus, HDV)**和戊型肝炎病毒**(hepatitis E virus, HEV)。在病毒分类学上这些病毒分别隶属于不同病毒科的不同病毒属，它们的**传播途径和致病特点也不尽相同**，其中HAV与HEV经消化道途径传播，引起急性肝炎，不发展成慢性肝炎或慢性病毒携带者；HBV与HCV主要经血液和体液等胃肠道外途径传播，除可引起急性肝炎外，主要呈慢性感染，并与肝硬化及原发性肝细胞癌的发生密切相关；HDV是一种缺陷病毒，必须与HBV等嗜肝DNA病毒共生时才能复制，故其传播途径和致病特点与乙型肝炎病毒相似(表28-1)。

除上述5种肝炎病毒外，目前尚有10%~20%左右的肝炎病因不明，提示可能存在尚未发现的肝炎病毒。曾经在输血后肝炎患者的血清中发现一些新的病毒，如GBV-C(GB virus-C)和TT病毒(Torque Teno virus, TTV)等，但由于这些病毒的致病性尚不清楚，因此是否为新型人类肝炎病毒尚未定论。此外，还有一些病毒如巨细胞病毒、EB病毒、单纯疱疹病毒、黄热病病毒、风疹病毒和肠道病毒等也可引起肝脏炎症，但不列入肝炎病毒范畴。

表28-1 人类肝炎病毒的主要特征

名称	分类	大小	基因组	传播途径	主要疾病	致癌性
HAV	小RNA病毒科 嗜肝病毒属	27nm	ssRNA 7.5kb	粪-口	急性甲型肝炎	否
HBV	嗜肝DNA病毒科 正嗜肝DNA病毒属	42nm	dsDNA 3.2kb	血源性 垂直传播	急、慢性乙型肝炎，重型肝炎，肝硬化	是
HCV	黄病毒科 丙型肝炎病毒属	55~65nm	ssRNA 9.5kb	血源性 垂直传播	急、慢性丙型肝炎，重型肝炎，肝硬化	是
HDV	未确定 丁型肝炎病毒属	35nm	ssRNA 1.7kb	血源性	急、慢性丁型肝炎，重症肝炎，肝硬化	是
HEV	肝炎病毒科 戊型肝炎病毒属	30~32nm	ssRNA 7.6kb	粪-口	急性戊型肝炎	否

第一节 甲型肝炎病毒

甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)**是甲型肝炎的病原体**。1973年Feinstone采用免疫电镜技术，首次在急性肝炎患者的粪便中发现HAV颗粒。1979年Provost首次利用传代恒河猴肾细胞(FRhk6)成功培养出病毒，为HAV疫苗的研制奠定了基础。1983年国际病毒分类命名委员会(ICTV)将HAV归类于小RNA病毒科肠道病毒属72型。进一步的研究发现，HAV的大小和形态虽然与肠道病毒相似，但其基因组序列及生物学性状与肠道病毒明显不同，因此，1993年ICTV将其重新归类为小RNA病毒科嗜肝病毒属(*Hepatovirus*)。**甲型肝炎一般为自限性疾病，预后良好，不发展成慢性肝炎和慢性病毒携带者**。

笔记

一、生物学性状

(一) 形态与结构

HAV 颗粒呈球形，直径 27~32nm，核衣壳为二十面体立体对称，无包膜(图 28-1)。电镜下 HAV 呈实心和空心两种类型颗粒，前者为成熟的完整病毒颗粒，具有感染性，后者为缺乏病毒核酸的空心衣壳，无感染性但具有抗原性。**HAV 基因组为单正链** RNA，长约 7500 个核苷酸，由 5' 末端非编码区(5'-noncoding region，5' NCR)、编码区和 3' 末端非编码区(3'-noncoding region，3' NCR)组成。编码区只有一个开放读码框(ORF)，分为 P1、P2、P3 三个功能区，P1 区编码 VP1、VP2、VP3 及 VP4 四种多肽，其中 VP1、VP2、VP3 为病毒衣壳蛋白的主要成分，包围并保护核酸，具有抗原性，可诱导机体产生中和抗体。VP4 含量很少，其作用和功能尚不清楚。P2 和 P3 区编码病毒 RNA 多聚酶、蛋白酶等非结构蛋白，在病毒 RNA 复制和蛋白的加工过程中起作用。

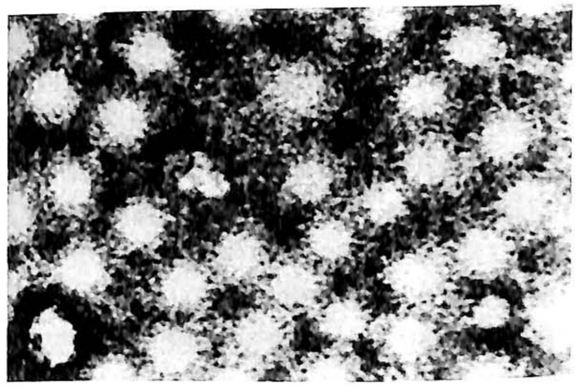


图 28-1 甲型肝炎病毒免疫电镜图(×222 000)(图片引自 Geo. F. Brooks，Janet S. Butel，Stephen A. Morse. Jawetz，Melnick，& Adelberg's Medical Microbiology. 25th ed. McGraw-Hill，2010)

从世界各地分离的 HAV 毒株**抗原性稳定，仅有一个血清型**。根据基因序列的同源性，可将 HAV 分为 7 个基因型(Ⅰ~Ⅶ型)，其中Ⅰ型和Ⅲ型又分可为两个亚型，即ⅠA 和ⅠB，ⅢA 和ⅢB。Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅶ型可感染人类，我国流行的主要为ⅠA 型。

(二) 抵抗力

HAV 对理化因素有较强的抵抗力，可耐受乙醚、三氯甲烷等有机溶剂，在 pH 3 的酸性环境中稳定，在 60℃条件下可存活 4 小时，**在淡水、海水、泥沙和毛蚶等水生贝类中可存活数天至数月**。但 100℃ 5 分钟可使之灭活，对紫外线、甲醛和氯敏感。

(三) 动物模型与细胞培养

HAV 的主要宿主为人类及灵长类动物。我国学者毛江森等最早建立了短尾猴 HAV 感染动物模型。黑猩猩、狨猴、猕猴及红面猴等亦对 HAV 易感，经口或静脉注射途径感染 HAV 后均可发生肝炎，感染后可在粪便中检出病毒颗粒，血清中出现 HAV 的相应抗体。动物模型主要用于 HAV 的病原学研究、疫苗免疫效果评价及药物筛选等。

HAV 可在多种原代及传代细胞中增殖，原代狨猴肝细胞、传代恒河猴胚肾细胞(FRhk4、FRhk6)、非洲绿猴肾细胞(Vero)、人胚肺二倍体细胞(MRC5 或 KMB17)及人肝癌细胞(PLC/PRF/S)等均可用于 HAV 的分离培养，但病毒在培养细胞中的增殖速度非常缓慢且不引起细胞病变，因此，从标本中分离 HAV 常需数周甚至数月，并且需要用免疫学方法检测病毒的抗原成分才能确定是否有病毒在细胞中增殖。

二、致病性与免疫性

(一) 传染源与传播途径

HAV 的传染源为急性期患者和隐性感染者，主要由粪 - 口途径传播，通过污染水源、食物、海产品、食具等造成散发流行或暴发流行。1988 年春季上海市曾发生因食用被 HAV 污染的毛蚶所致的甲型肝炎暴发流行，患者多达 30 余万例，死亡 47 例。甲型肝炎的潜伏期为 15~50 天，平均 30 天，在潜伏期末粪便就大量排出病毒，传染性强。发病 2 周以后，随着肠道中抗 -HAV

笔记

IgA 及血清中抗-HAV IgM 和 IgG 的产生，粪便中不再排出病毒。HAV 主要侵犯儿童和青少年，感染后大多表现为隐性感染，不出现明显的症状和体征，但粪便中有病毒排出，是重要的传染源。

(二) 致病与免疫机制

HAV 经口侵入人体，**首先在口咽部或唾液腺中初步增殖**，然后到达肠黏膜及局部淋巴结中大量增殖，并侵入血流形成病毒血症，**最终侵犯靶器官肝脏**，在肝脏增殖后**通过胆汁排入肠道并随粪便排出**。病毒血症持续时间一般 1~2 周，在此期间存在经血液传播的可能性，但由于病毒血症持续时间较短，血中病毒滴度较低，因此临床上经血传播的甲型肝炎罕见。甲型肝炎患者有明显的肝脏炎症，临床上表现为中等程度发热、全身乏力、食欲减退、恶心、呕吐、黄疸、肝脾肿大和血清转氨酶升高等。HAV 引起肝细胞损伤的机制尚不十分清楚，目前认为，**HAV 在肝细胞内增殖缓慢，一般不直接造成肝细胞的损害，其致病机制主要与免疫病理反应有关**。在感染早期，主要是自然杀伤细胞(NK 细胞)起作用，引起受感染的肝细胞溶解。随后机体特异性细胞免疫被激活，杀伤性 T 淋巴细胞(CTL)在 HLA 的介导下杀伤肝细胞。干扰素在甲型肝炎病毒的感染和免疫损伤机制中也起重要作用，在感染的过程中，机体产生的高水平的 IFN-γ 可促进肝细胞表达 HLA 分子，从而增强了 HLA 介导的 CTL 对肝细胞的细胞毒作用。

HAV 的显性感染或隐性感染均可诱导机体产生持久的免疫力。抗-HAV IgM 在感染早期即出现，发病后一周达高峰，维持两个月左右逐渐下降。抗-HAV IgG 在急性期末或恢复期早期出现，并可维持多年，对 HAV 的再感染有免疫保护作用，是获得免疫力的标志(图 28-2)。成人多因隐性感染而获得免疫力，我国成人血清 HAV 抗体阳性率达 70%~90%。

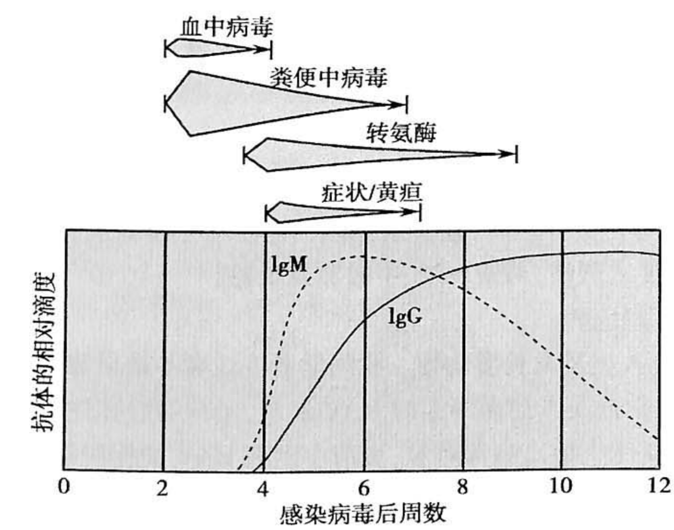


图 28-2 甲型肝炎病毒感染的临床与血清学过程

三、微生物学检查法

HAV 的微生物学诊断以血清学检查和病原学检查为主，一般不做病原体的分离培养。**血清学检查包括用 ELISA 法检测患者血清中的抗-HAV IgM 和 IgG**。抗-HAV IgM 出现早，消失快，是甲型肝炎早期诊断最可靠的血清学指标。抗-HAV IgG 检测主要用于了解既往感染史或流行病学调查。病原学检查主要采用粪便标本，包括用 RT-PCR 法检测 HAV RNA，用 ELISA 法检测 HAV 抗原，用免疫电镜法检测病毒颗粒等。

四、防治原则

笔记

HAV 主要通过粪便污染食品和水源经口传播，因此**做好卫生宣教工作，加强食物、水源和粪**

便管理是预防甲型肝炎的主要环节。患者的排泄物、食具、物品和床单衣物等要严格消毒处理。甲型肝炎为自限性疾病，尚无有效的抗病毒药物，临床上以对症支持疗法为主。

目前，**已有减毒活疫苗和灭活疫苗用于甲型肝炎的特异性预防**。我国研制成功的 HAV 减毒活疫苗 H2 株和 LA-1 株，是将从患者粪便中分离到的 HAV 经人胚肺二倍体细胞株连续传代减毒而成，免疫效果良好，接种后可获得持久的免疫力，目前已在我国大规模使用。灭活疫苗已在国外研制成功，目前广泛使用的有单价灭活疫苗以及甲型肝炎和乙型肝炎联合疫苗两种，均具有良好的安全性和免疫保护效果。基因工程疫苗和多表位疫苗等新型 HAV 疫苗正在研制中。

第二节　乙型肝炎病毒

乙型肝炎病毒（hepatitis B virus，HBV）在分类上归属于嗜肝 DNA 病毒科（Hepadnaviridae）正嗜肝 DNA 病毒属（*Orthohepadnavirus*），是乙型肝炎的病原体。1965 年 Blumberg 等首次报道在澳大利亚土著人血清中发现一种与肝炎相关的抗原成分，称为澳大利亚抗原或肝炎相关抗原（hepatitis associated antigen，HAA），随后证实这种抗原是 HBV 的表面抗原。1970 年 Dane 在电镜下发现患者血清中存在 HBV 颗粒。**HBV 感染是全球性的公共卫生问题**，估计全球 HBV 携带者高达 3.7 亿人。**我国是乙型肝炎的高流行区**，人群 HBV 携带率约为 8%～9%，携带者超过 1.2 亿人。**HBV 感染后临床表现呈多样性，可表现为重症肝炎、急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者，其中部分慢性肝炎可演变成肝硬化或肝癌**。

一、生物学性状

（一）形态与结构

电镜下 HBV 感染者的血清中可见三种不同形态的病毒颗粒，即大球形颗粒、小球形颗粒和管形颗粒（图 28-3）。

1. 大球形颗粒　又称为 Dane **颗粒，是具有感染性的完整的** HBV **颗粒**，电镜下呈球形，具有双层结构，直径约 42nm。外层相当于病毒的包膜，由脂质双层和病毒编码的包膜蛋白组成。包膜蛋白包括小蛋白（small protein，S 蛋白）、中蛋白（middle protein，M 蛋白）和大蛋白（large protein，L 蛋白）3 种，比例约为 4：1：1。**S 蛋白为 HBV 表面抗原**（hepatitis B surface antigen，HBsAg）。**M 蛋白及 L 蛋白为包膜蛋白，M 蛋白含** HBsAg **及前** S1 **抗原**（PreS1 Ag），**L 蛋白含** HBsAg、PreS1 Ag **和前** S2 **抗原**（PreS2 Ag）。内层为病毒的核心，相当于病毒的核衣壳，呈 20 面体立体对称，直径约 27nm，核心表面的**衣壳蛋白为 HBV 核心抗原**（hepatitis B core antigen，HBcAg）。病毒核心内部含病毒的双链 DNA 和 DNA 多聚酶等（图 28-4）。

2. 小球形颗粒　直径为 22nm，为一种中空颗粒，大量存在于血液中，**主要成分为 HBsAg**，是

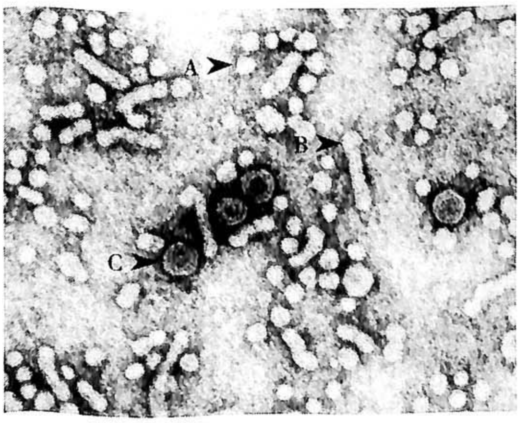


图 28-3　HBV 电镜图（×400 000）

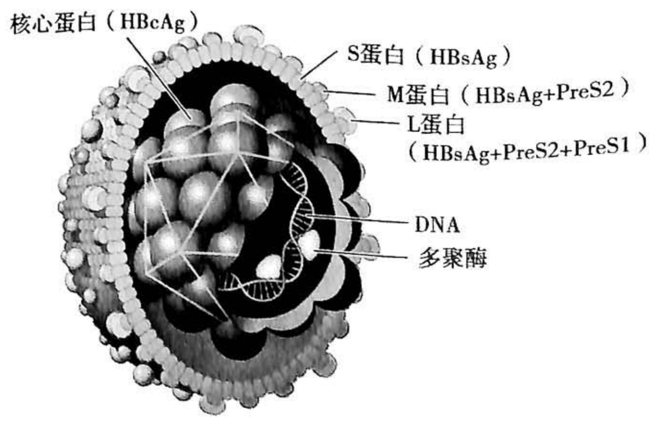


图 28-4　乙型肝炎病毒结构示意图

笔记

由 HBV 在肝细胞内复制时产生过剩的 HBsAg 装配而成，不含病毒 DNA 及 DNA 多聚酶，因此无感染性。

3. 管形颗粒 由小球形颗粒聚合而成，直径与小球形颗粒相同，长度约 100~500nm，亦存在于血液中。

（二）基因结构与功能

HBV DNA 的结构特殊，为**不完全双链环状** DNA，两条链的长度不一致，长链为负链，有固定的长度，约含 3200 个核苷酸。短链为正链，长度约为负链的 50%~100% 不等。两条 DNA 链的 5' 端各有约 250 个核苷酸可相互配对，因此，正负链核苷酸 5' 端可构成黏性末端，使 DNA 分子形成环状结构。在黏性末端两侧各有由 11 个核苷酸(5'-TTCACCTCTGC)组成的直接重复序列(direct repeat，DR)，称为 DR1 和 DR2 区。DR 区是病毒 DNA 成环和病毒复制的关键序列。负链 DNA 的 5' 末端与病毒 DNA 聚合酶 N 末端的末端蛋白(terminal protein，TP)共价结合，TP 是引导负链 DNA 合成的引物。正链的 5' 末端有一段短的核苷酸序列，是引导正链 DNA 合成的引物(图 28-5)。

HBV 负链 DNA 含有 4 个开放读码框(ORF)，分别称为 S、C、P 和 X 区。各 ORF 相互重叠，使基因组的利用率大大提高。S 区由 S 基因、preS2 基因和 preS1 基因组成，均有各自的起始密码子。**S 基因编码 S 蛋白，即** HBsAg；**S 和 preS2 基因编码 M 蛋白，即** HBsAg+PreS2 Ag；**S、preS2 和 preS1 基因编码 L 蛋白，即** HBsAg+PreS2 Ag+ PreS1 Ag。C 区由前 C(pre-C)基因和 C 基因组成。pre-C 基因位于 C 基因上游，长 87bp，与 C 基因共同编码 Pre-C 蛋白。Pre-C 蛋白是 HBeAg 的前体蛋白，经切割加工后形成 HBeAg 并分泌到血液循环中。**HBeAg 为非结构蛋白**，一般不出现在 HBV 颗粒中。C 基因编码核心蛋白，即 HBcAg。**HBcAg 是病毒的衣壳蛋白**，也存在于 HBV 感染的肝细胞的胞核、胞质或胞膜上，一般不出现于血液中。P 区最长，编码 DNA 聚合酶，该酶含有逆转录酶结构域及 RNA 酶 H 结构域，因此**该酶既具有 DNA 聚合酶的功能亦具有逆转录酶和 RNA 酶 H 的活性**。X 区编码的 HBxAg 是一种多功能蛋白质，具有广泛的反式激

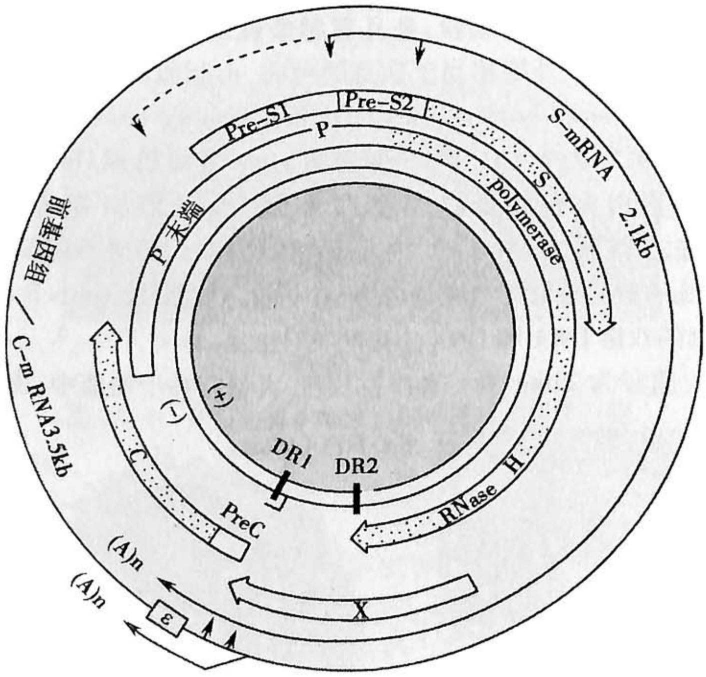


图 28-5 乙型肝炎病毒基因结构模式图

S：表面抗原基因；Pre-S1，Pre-S2：前表面抗原 1、2 基因；C：核心抗原基因；PreC：前核心抗原基因；P：P 基因；polymerase：多聚酶基因；RNaseH：RNA 酶 H 基因；S-mRNA：转录 S 的 mRNA；C-mRNA：转录 C 的 mRNA；DR1、DR2：直接重复序列 1、2

笔记

活作用,可反式激活细胞内的原癌基因、HBV基因及多种信号通路,并具有与p53基因相互作用、影响细胞周期等活性,因此,**HBxAg与肝癌的发生发展有密切的关系**。

根据HBV基因组的差异,可将HBV**分为A~H 8个基因型**,各基因型又可分为不同亚型。不同地区流行的基因型不同,A型主要见于美国和西欧,D型见于中东、北非和南欧,E型见于非洲,我国及亚洲地区流行的主要是B型和C型。

(三) HBV的复制

HBV的复制过程(图28-6)如下:

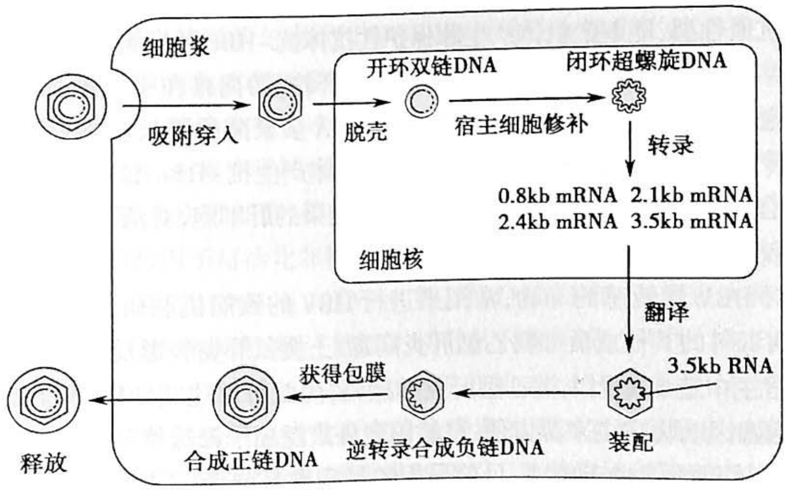


图28-6 乙型肝炎病毒的复制周期示意图

1. HBV通过PreS1和PreS2与肝细胞表面特异性受体结合吸附到肝细胞表面,继而进入肝细胞,在胞浆中脱去衣壳。

2. 病毒DNA进入细胞核内,在HBV编码的DNA聚合酶的催化下,以负链DNA为模板,延长修补正链DNA缺口,形成共价闭合环状DNA(covakaently closed circular DNA,cccDNA)。

3. 在细胞RNA聚合酶的作用下,以负链DNA为模板,转录成0.8kb、2.1kb、2.4 kb和3.5kb的4种mRNA。0.8kb mRNA编码HBxAg;2.1kb mRNA以4∶1的比例编码包膜S蛋白和M蛋白;2.4kb mRNA编码包膜L蛋白;3.5kb mRNA除可编码DNA聚合酶、HBcAg和HBeAg前体蛋白外,还可作为病毒前基因组RNA(pregenome RNA,pgRNA)复制子代病毒DNA。

4. 病毒前基因组RNA、DNA聚合酶和HBcAg在胞浆中装配成病毒核心颗粒。

5. 在核心颗粒内,以前基因组RNA为模板,在病毒逆转录酶作用下,逆转录成HBV全长负链DNA,同时前基因组RNA模板被病毒RNA酶H降解。新合成的负链DNA作为模板合成子代正链DNA,通常不等正链合成完毕,核心颗粒即被包装到包膜中,因此子代病毒基因组常为不完整双链DNA。

6. 核心颗粒进入内质网和高尔基体中加工成熟并获得包膜成为完整的病毒颗粒,最后借助细胞分泌通路释放到细胞外。

过去认为HBV为专一的嗜肝病毒,但近年来发现在单个核细胞、脾、肾、胰、骨髓、淋巴结、睾丸、卵巢等器官或组织中亦检出HBV DNA,提示HBV亦可能在肝外复制。

(四) HBV的抗原组成

1. HBsAg HBsAg为**糖基化蛋白,大量存在于感染者的血液中,是**HBV**感染的主要标志**。HBsAg含有B细胞表位和T细胞表位,可刺激机体产生保护性免疫应答,因此HBsAg**是制备疫苗的最主要成分**。HBsAg分子中有一段抗原性很强的序列,称为a抗原表位,此外还有二组互相排斥的抗原表位(d/y和w/r)。这些抗原表位按不同组合形式,构成HBsAg的**四种主要血清型**,

笔记

即adr、adw、ayr、ayw。HBsAg血清型的分布有明显的地区差异并与种族有关，我国汉族以adr多见，少数民族多为ayw。因有共同的a抗原表位，故亚型间有一定的交叉免疫保护作用。

PreS1及PreS2抗原性强，可刺激机体产生特异性抗体，抗PreS2出现于急性期患者的血清中，持续时间短，一般仅为2~3个月，抗-PreS1持续时间较长。**PreS1及PreS2抗原具有与肝细胞表面受体结合的表位**，可介导HBV吸附于肝细胞表面，有利于病毒侵入，因此抗-PreS2及抗-PreS1能通过阻断HBV与肝细胞结合而起抗病毒作用。

2. HBcAg HBcAg为**HBV的衣壳蛋白**，主要存在于HBV核衣壳表面，其外被包膜所覆盖，也可存在于肝细胞的胞核、胞质和胞膜上，但一般不游离于血液循环中，故不易从感染者的血中检出。**HBcAg抗原性强**，能刺激机体产生**非保护性抗体**抗-HBc及细胞免疫应答。

3. HBeAg HBeAg是PreC蛋白翻译加工后的产物，游离存在于血循环中，也可存在于肝细胞的胞质和胞膜上，其消长与病毒颗粒及病毒DNA多聚酶的消长基本一致，故**可作为HBV复制及具有强传染性的指标之一**。HBeAg可刺激机体产生抗-HBe，该抗体能与受染肝细胞表面的HBeAg结合，通过补体介导的细胞毒作用破坏受染的肝细胞，对清除HBV有一定的作用。

（五）动物模型与细胞培养

黑猩猩是对HBV最敏感的动物，常用来进行HBV的致病机制研究和疫苗效果评价。此外，嗜肝DNA病毒科的其他成员如鸭乙型肝炎病毒、土拨鼠肝炎病毒及地松鼠肝炎病毒等可在其相应的天然宿主中造成类似人类乙型肝炎的感染，因此可用这些动物作为实验动物模型，其中鸭乙型肝炎病毒因动物宿主来源方便，已被国内外广泛用于筛选抗病毒药物及免疫耐受机制的研究。HBV的体外培养尚未成功，目前采用的是病毒DNA转染的细胞培养系统，即将病毒DNA导入肝癌细胞株后，HBV基因组与细胞DNA整合并可长期稳定表达HBV抗原成分或产生Dane颗粒。

（六）抵抗力

HBV对外界环境的抵抗力较强，对低温、干燥、紫外线均有耐受性。不被70%乙醇灭活，因此乙醇消毒这一常用的方法对HBV的消毒并不适用。压力蒸汽灭菌法、100℃加热10分钟可灭活HBV，0.5%过氧乙酸、5%次氯酸钠和环氧乙烷等常用于HBV的消毒。然而，HBV的传染性和HBsAg的抗原性并不一致，上述消毒手段仅能使HBV失去传染性，但仍可保留HBsAg的抗原性。

二、致病性与免疫性

（一）传染源

主要传染源为乙型肝炎患者或无症状HBV携带者。感染者的血液和多种体液均含有病毒，不论在潜伏期、急性期或慢性活动期，患者的血液和体液都有传染性。HBV携带者因无症状，不易被察觉，其作为传染源的危害性更大。

（二）传播途径

1. 血液或血制品传播 HBV在血液循环中大量存在，微量的污染血进入人体即可导致感染，所以血液和血制品、注射、外科或牙科手术、针刺（文身）、共用剃刀或牙刷及皮肤黏膜的微小损伤等均可造成传播。医院内污染的器械（如内镜、牙科或妇产科器械等）可致医院内传播。

2. 母-婴传播 多发生于胎儿期和围生期，HBsAg和HBeAg双阳性母亲的HBV传播率可高达95%，其中宫内感染约为10%~15%，其余大部分为围生期感染，即分娩时新生儿经产道时被感染。此外，HBV也可通过哺乳传播。

3. 性传播及密切接触传播 HBV感染者的唾液、乳汁、精液及阴道分泌物等体液中均含有病毒，因此HBV可通过日常生活密切接触或性接触传播。HBsAg阳性的配偶较其他家庭成员更易受感染，表明HBV可以经性途径传播。在我国等HBV高流行区，性传播不是HBV的主要

笔记

传播方式，但在低流行区，HBV 感染主要发生在性乱者和静脉药瘾者中，所以西方国家将乙型肝炎列为性传播疾病。

（三）致病与免疫机制

乙型肝炎的潜伏期为 30~160 天。临床表现呈多样性，可表现为无症状 HBV 携带者、急性肝炎、慢性肝炎及重症肝炎。HBV 的致病机制迄今尚未完全明了，大量的研究结果表明，**免疫病理反应以及病毒与宿主细胞间的相互作用是肝细胞损伤的主要原因。** HBV 侵入机体后，首先感染以肝细胞为主的多种细胞，在细胞内复制产生完整的病毒颗粒并分泌 HBsAg、HBeAg 和 HBcAg 等抗原成分。在血液或肝细胞膜上的病毒抗原成分可诱导机体产生特异性的细胞免疫和体液免疫应答。免疫反应的强弱与临床过程的轻重及转归有密切关系。

1. 细胞免疫及其介导的免疫病理反应 病毒抗原致敏的 CTL 是彻底清除 HBV 的最重要环节。细胞免疫清除 HBV 的途径有三个，首先是特异性 CTL 的直接杀伤作用，活化的 CTL 通过识别肝细胞膜上的 HLA-Ⅰ类分子和病毒抗原而与之结合，继而分泌穿孔素（perforin）和淋巴毒素（lymphotoxin）等直接杀伤靶细胞；其次是特异性 T 细胞产生和分泌多种细胞因子而发挥的抗病毒效应，其中有些细胞因子可活化非特异性淋巴细胞和单核-巨噬细胞，从而扩大了细胞毒效应，另一些细胞因子如 IL-2、TNF-α、IFN-γ 等，通过抑制 HBV 基因表达和病毒复制等非靶细胞损伤性抗病毒效应来清除病毒；第三是 CTL 诱导的肝细胞凋亡作用，HBV 感染的肝细胞表面可表达高水平的 Fas 抗原，CTL 通过识别肝细胞膜上的 Fas 抗原并与之结合而诱导肝细胞凋亡。然而，**特异性 CTL 介导的细胞免疫效应在清除病毒的同时又可导致肝细胞损伤，过度的细胞免疫反应可引起大面积的肝细胞破坏，导致重型肝炎。若特异性细胞免疫功能低下则不能有效清除病毒，病毒在体内持续存在而形成慢性肝炎。**

2. 体液免疫及其介导的免疫病理反应 HBV 感染可诱导机体产生抗-HBs、抗-PreS1 和抗-PreS2 等特异性抗体，这些**保护性中和抗体可直接清除血液循环中游离的病毒，并可阻断病毒对肝细胞的黏附作用**，因此在抗病毒免疫和清除病毒过程中具有重要作用。然而，HBsAg 和抗-HBs 可形成免疫复合物，并随血液循环沉积于肾小球基底膜、关节滑液囊等处，激活补体，导致**Ⅲ型超敏反应**，故乙型肝炎患者可伴有肾小球肾炎、关节炎等肝外损害。如果免疫复合物大量沉积于肝内，可使肝毛细管栓塞，导致急性肝坏死，临床上表现为重型肝炎。

3. 自身免疫反应引起的病理损害 HBV 感染肝细胞后，细胞膜上除含有病毒特异性抗原外，还会引起肝细胞表面自身抗原发生改变，**暴露出肝特异性脂蛋白**（liver specific protein，LSP）**抗原**。LSP 可作为自身抗原诱导机体产生自身抗体，通过 ADCC 作用、CTL 的杀伤作用或释放淋巴因子等直接或间接损伤肝细胞。在慢性肝炎患者血清中常可检测到 LSP 抗体、抗核抗体或抗平滑肌抗体等自身抗体。

4. 免疫耐受与慢性肝炎 机体对 HBV 的免疫耐受常常是导致 HBV 持续性感染的重要原因。**当 HBV 感染者适应性细胞免疫和体液免疫处于较低水平或完全缺乏时，机体既不能有效地清除病毒，也不能产生有效的免疫应答杀伤靶细胞，病毒与宿主之间"和平共处"，形成免疫耐受，临床上表现为无症状 HBV 携带者或慢性持续性肝炎。** 对 HBV 的免疫耐受可发生在母婴垂直感染和成人感染过程中，当发生 HBV 宫内感染时，胎儿胸腺淋巴细胞与 HBV 抗原相遇，导致特异性淋巴细胞克隆被排除而发生免疫耐受；幼龄感染 HBV 后，因免疫系统尚未发育成熟，也可对病毒形成免疫耐受；成人 HBV 感染后，如果病毒的感染量大，导致特异性 T 细胞被耗竭或由于大量细胞凋亡而使特异性 T 细胞消耗过多时，机体也可形成免疫耐受。此外，HBV 感染后，机体免疫应答能力低下，干扰素产生不足，可导致靶细胞的 HLA-Ⅰ类抗原表达低下，由于 CTL 杀伤靶细胞需要 HLA-Ⅰ类抗原的参与，因此靶细胞 HLA-Ⅰ类抗原表达低下可使 CTL 的杀伤作用减弱，不能有效地清除病毒。

综上所述，**机体对 HBV 的免疫效应具有双重性：既可清除病毒，也可造成肝细胞的损伤。**

当机体免疫功能正常时,感染后可获得特异性的免疫保护,很快将病毒局限化,受累的肝细胞不多,可通过彻底清除病毒而痊愈,临床上表现为急性肝炎。相反,若被感染的肝细胞较多,机体出现强烈的免疫反应导致大量的肝细胞坏死,表现为重型肝炎。当机体免疫功能低、免疫耐受或由于病毒变异而发生免疫逃逸时,机体免疫系统不能有效清除病毒,病毒则持续存在并不断复制,表现为慢性肝炎。慢性肝炎造成的肝细胞慢性病变过程可促进成纤维细胞增生,引起肝硬化。

5. 病毒变异与免疫逃逸 HBV DNA 的 4 个 ORF 区均可发生变异,导致病毒的抗原性和机体特异性免疫应答改变。S 基因编码的"a"抗原表位基因可发生点突变或插入突变,使其抗原性改变,导致免疫逃逸。此外,"a"抗原性改变使现有的诊断方法不能检出 HBsAg,临床上虽有 HBV 感染,但 HBsAg 却呈阴性结果,出现所谓的"**诊断逃逸**"。preC 基因的变异常发生在 1896 位核苷酸,使之由鸟嘌呤(G)变为腺嘌呤(A),导致 preC 区的第 28 位密码子由 TGG 变为终止密码子 TAG,从而不能转译出完整的 HBeAg,导致病毒逃避机体的免疫清除作用。C 基因编码的 HBcAg 是特异性 CTL 的靶抗原,C 基因的突变导致 HBcAg 抗原位点的改变,从而影响 CTL 对 HBcAg 的识别,形成所谓"**CTL 逃逸突变株**"。病毒基因突变导致的免疫逃逸作用在 HBV 感染慢性化过程中具有重要意义。此外在长期接受逆转录酶抑制剂或 DNA 聚合酶抑制剂治疗的过程中,HBV 的 P **区基因发生突变导致耐药性变异**。

6. HBV 与原发性肝癌 目前已有大量的证据表明,HBV 感染与**原发性肝细胞癌**(hepatocellular carcinoma,HCC)有密切关系。研究发现,初生时即感染土拨鼠肝炎病毒(WHV)的土拨鼠,经 3 年饲养后 100% 发生肝癌,而未感染 WHV 的土拨鼠无一发生肝癌;人群流行病学研究显示,我国 90% 以上的 HCC 患者感染过 HBV,HBsAg 携带者发生原发性肝癌的危险性比正常人高 217 倍;肝癌细胞染色体中有 HBV DNA 的整合,整合的 HBV 基因片段有 50% 左右为负链 DNA 5' 末端片段,即 X 基因片段。**X 基因编码的 X 蛋白通过广泛的反式激活作用和多种生物学作用影响细胞周期,促进细胞转化,最后发展成 HCC**。

三、微生物学检查法

HBV 感染的实验室诊断方法主要是检测血清标志物。HBV 的血清标志物主要包括抗原抗体系统和病毒核酸等。

(一) HBV 抗原、抗体检测

用 ELISA 法检测患者血清中 HBV 抗原和抗体是目前临床上诊断乙型肝炎最常用的检测方法。主要检测 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe 及抗-HBc(俗称"**两对半**"),必要时也可检测 PreS1 Ag 和 PreS2 Ag 和相应抗体。

1. HBsAg 和抗-HBs HBsAg 是机体感染 HBV 后最先出现的血清学指标,HBsAg 阳性见于急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者,是 HBV **感染的指标之一,也是筛选献血员的必检指标**。急性肝炎恢复后,一般在 1~4 个月内 HBsAg 消失,若持续 6 个月以上则认为已向慢性肝炎转化。无症状 HBV 携带者的肝功能正常,但可长期 HBsAg 阳性。HBsAg 阴性并不能完全排除 HBV 感染,因为 S 基因突变或低水平的表达可使常规检查方法难于检出。抗-HBs 是 HBV 的特异性中和抗体,见于乙型肝炎恢复期、既往 HBV 感染者或接种 HBV 疫苗后。抗-HBs **的出现表示机体对乙型肝炎有免疫力**。

2. HBcAg 和抗-HBc HBcAg 阳性表示病毒颗粒存在,具有传染性,但由于其仅存在于肝细胞内,不易在血清中检出,故不用于常规检测。抗-HBc 产生早,滴度高,持续时间长,几乎所有急性期病例均可检出。**抗-HBc IgM 阳性提示 HBV 处于复制状态,具有强的传染性**。抗-HBc IgG 在血中持续时间较长,是感染过 HBV 的标志,检出低滴度的抗-HBc IgG 提示既往感染,滴度高提示急性感染。

笔记

3. HBeAg 和抗-HBe　HBeAg 与 HBV DNA 多聚酶的消长基本一致，因此 **HBeAg 阳性提示 HBV 在体内复制活跃，有较强的传染性，如转为阴性，表示病毒复制减弱或停止。**若持续阳性则提示有发展成慢性肝炎的可能。抗-HBe 阳性表示机体已获得一定的免疫力，HBV 复制能力减弱，传染性降低。但在 PreC 基因发生变异时，由于变异株的免疫逃逸作用，即使抗-HBe 阳性，病毒仍大量增殖，因此，对抗-HBe 阳性的患者也应注意检测其血中的 HBV DNA，以全面了解病毒的复制情况。

4. PreS1 Ag 和 PreS2 Ag　与病毒的活动性复制有关，且含量的变化与血中 HBV DNA 的含量成正比，因此这两种抗原的检出可作为病毒复制的指标。抗-PreS1 及抗-PreS2 常见于急性乙型肝炎恢复期的早期，其检出提示病毒正在或已经被清除，预后良好。

HBV 抗原、抗体的血清学标志与临床关系较为复杂，必须对几项指标同时分析，方能做出正确的诊断，结果分析见表 28-2 及图 28-7。

表 28-2　HBV 抗原、抗体检测结果的临床分析

HBsAg	HBeAg	抗-HBs	抗-HBe	抗-HBc IgM	抗-HBc IgG	结果分析
+	-	-	-	-	-	HBV 感染者或无症状携带者
+	+	-	-	+	-	急性或慢性乙型肝炎（传染性强，俗称"大三阳"）
+	-	-	+	-	+	急性感染趋向恢复（俗称"小三阳"）
+	+	-	-	+	+	急性或慢性乙型肝炎或无症状携带者
-	-	+	+	-	+	既往感染
-	-	-	-	-	+	既往感染
-	-	+	-	-	-	既往感染或接种过疫苗

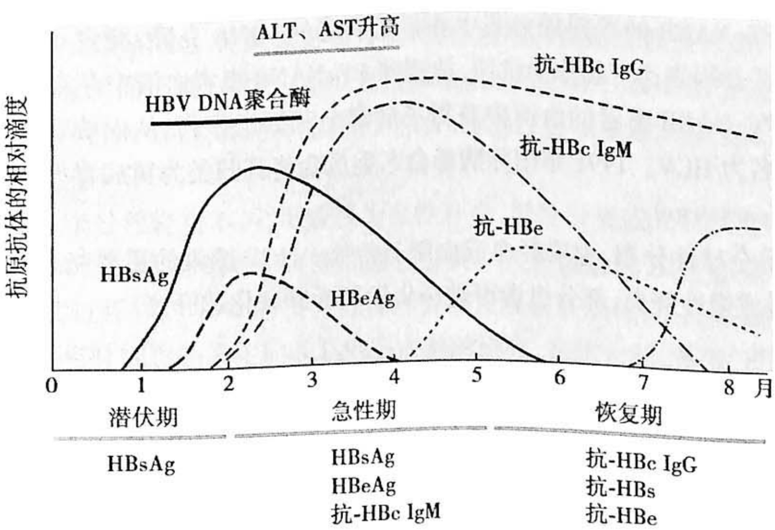


图 28-7　乙型肝炎病毒感染的临床与血清学过程

（二）血清 HBV DNA 检测

目前一般采用荧光定量 PCR 法检测 HBV DNA。感染者血清 HBV DNA 出现早，在慢性感染者中 HBV DNA 可持续阳性，检出 HBV DNA 是病毒复制和传染性的最可靠的指标，因此已被广泛应用于临床诊断和药物效果评价。

笔记

四、防 治 原 则

加强对供血员的筛选，以降低输血后乙型肝炎的发生率。患者的血液、分泌物和排泄物，用过的食具、药杯、衣物、注射器和针头等均须严格消毒。提倡使用一次性注射器具。对高危人群应采取特异性预防措施。

（一）主动免疫

接种乙型肝炎疫苗是最有效的预防方法。血源 HBsAg 疫苗为第一代乙型肝炎疫苗，是从 HBsAg 携带者血液中提纯的 HBsAg 经甲醛灭活而成，曾被广泛应用，但由于来源及安全性问题，现已停止使用。基因工程疫苗为第二代乙型肝炎疫苗，是将编码 HBsAg 的基因克隆到酵母菌、哺乳动物细胞或牛痘苗病毒中高效表达后纯化而来。基因工程疫苗的优点是具有良好的安全性，可以大量制备且排除了血源疫苗的潜在安全隐患。**我国已将乙肝疫苗接种纳入计划免疫，**按 0、1、6 个月方案接种 HBV 疫苗共 3 次，可获良好的免疫保护作用。

（二）被动免疫

含高效价抗-HBs 的人血清免疫球蛋白（HBIG）可用于紧急预防。意外暴露者在 7 日内注射 HBIG 0.08mg/kg，一个月后重复注射一次，可获得免疫保护。HBsAg 阳性母亲的新生儿，应在出生后 24 小时内注射 HBIG 1ml，然后再全程接种 HBV 疫苗，可有效预防新生儿感染。

对乙型肝炎尚无特效疗法。慢性肝炎患者可用免疫调节剂、护肝药物及抗病毒药联合治疗。常用的抗病毒药有 IFN-α、逆转录酶或 DNA 聚合酶抑制如拉米夫啶（lamivudine，LAM）、阿德福韦酯（adefovir dipivoxil，ADV）和恩替卡韦（entecavir，ETV）等。清热解毒、活血化淤的中草药等对 HBV 感染有一定的疗效。

第三节 丙型肝炎病毒

丙型肝炎病毒（hepatitis C virus，HCV）引起的丙型肝炎以前曾被称为肠道外传播的非甲非乙型肝炎（parenterally transmitted nonA，nonB hepatitis，PT-NANB）。1989 年，美国学者 Choo 等首次在实验感染 PT-NANB 的黑猩猩血浆中获得了病毒的 cDNA 克隆，测定了约 70% 的 HCV 基因序列，并用这些基因表达产物作为抗原，检测到 PT-NANB 患者血清中存在该抗原的特异性抗体。随后又从 PT-NANB 患者的血清中获得了病毒全基因组序列，从而确认了 PT-NANB 的病原体，并将其命名为 HCV。1991 年国际病毒命名委员会将其归类为黄病毒科（Flaviviridae）丙型肝炎病毒属（*Hepacivirus*）。

HCV 感染呈全球性分布，主要经血或血制品传播。**HCV 感染的重要特征是易于慢性化**，急性期后易于发展成慢性肝炎，部分患者可进一步发展为肝硬化或肝癌。

一、生物学特性

（一）形态结构

HCV 呈球形，有包膜，直径约 55~65nm。基因组为单正链线状 RNA，长度约 9.5kb 基因组由 5' 端非编码区（5'UTR）、编码区和 3' 端非编码区（3'UTR）组成（图 28-8）。5' 端非编码区是 HCV 基因组中最保守的序列，是设计诊断用 PCR 引物的首选部位，该区还存在一个内部核糖体进入位点，对 HCV 基因的表达起调控作用。编码区仅含一个长的开放阅读框（ORF），编码一个大分子的多聚蛋白前体，该前体蛋白在病毒蛋白酶和宿主信号肽酶的作用下切割产生病毒的结构蛋白和非结构蛋白。病毒的结构蛋白包括核心蛋白 C 和包膜蛋白 E1 和 E2。核心蛋白 C 组成病毒的核衣壳，其抗原性强，含有多个 CTL 识别位点，可诱导细胞免疫反应。**包膜蛋白 E1 和 E2 是两种高度糖基化的蛋白，编码这两种蛋白的基因具有高度变异性，导致包膜蛋白的抗原性发生**

笔记

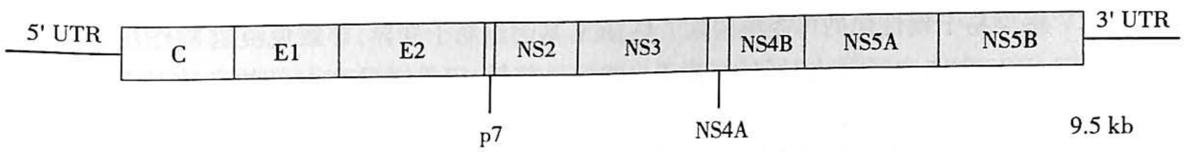


图 28-8 HCV 基因结构示意图
C:核心蛋白基因;E:包膜蛋白基因;NS:非结构蛋白基因

快速变异。这种变异引起的免疫逃逸作用是病毒在体内持续存在,感染易于慢性化的主要原因,也是 HCV 疫苗研制的一大障碍。非结构蛋白包括 NS2、NS3、NS4a、NS4b、NS5a 和 NS5b,其中 NS3 蛋白具有解旋酶和蛋白酶活性,NS5 蛋白具有依赖 RNA 的 RNA 多聚酶活性,这两种非结构蛋白在病毒的复制过程中起重要作用。p7 为一种小分子膜相关蛋白质,编码基因位于结构蛋白和非结构蛋白之间,其确切功能尚不清楚,可能在病毒的装配和释放过程中起作用。3' 端非编码区的功能尚不清楚,可能与病毒复制有一定关系。

(二) 基因分型

根据 HCV NS5 区基因序列的同源性,可将 HCV 分为 6 个基因型,11 个亚型,即 1a、1b、1c、2a、2b、2c、3a、3b、4a、5a、6a。其中欧美流行株多为 1a、1b、2a、2b 和 3a;中东地区以 4a 为主;亚洲包括我国以 1b、2a、2b 亚型较为多见。

(三) 培养特性

HCV 体外培养困难,**至今尚无理想的细胞培养模型。**黑猩猩对 HCV 敏感,病毒可在其体内连续传代,是目前常用的动物模型。

(四) 抵抗力

HCV 对理化因素抵抗力不强,对乙醚、三氯甲烷等有机溶剂敏感,100℃ 5 分钟、紫外线照射、甲醛(1:6000)、20% 次氯酸等均可使之灭活。血液或血制品经 60℃处理 30 小时可使 HCV 的传染性消失。

二、致病性与免疫性

人类是 HCV 的天然宿主。**传染源主要为急、慢性丙型肝炎患者和慢性 HCV 携带者。传播途径主要为输血或血制品传播。**此外,亦可通过非输血途径的隐性微小创伤、性接触、家庭密切接触及母婴传播。人群对 HCV 普遍易感,同性恋者、静脉注射吸毒者及接受血液透析的患者为高危人群。

HCV 感染的临床过程轻重不一,可表现为急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者。HCV **感染极易慢性化**,40%~50% 的丙肝患者可转变成慢性肝炎。大多数急性 HCV 感染者临床表现不明显,发现时已呈慢性过程。约 20% 的慢性丙型肝炎可发展成肝硬化,在此基础上又可发展成肝细胞癌。HCV 感染与肝细胞癌发生的关系已有大量的研究,在意大利、希腊、日本等国肝癌患者血中,50%~70% 抗-HCV 阳性,我国肝癌患者血中约 10% 存在抗-HCV。用 RT-PCR 技术可从约 10% 的肝癌组织中检出 HCV RNA。

HCV 的致病机制尚未完全明了。目前认为,**HCV 的致病机制与病毒的直接致病作用、免疫病理反应及细胞凋亡有关。**HCV 通过包膜蛋白 E2 与肝细胞表面的相应受体 CD81 分子结合,介导病毒进入肝细胞。病毒在肝细胞内复制,使肝细胞结构和功能改变或干扰蛋白质合成,直接导致肝细胞损伤;免疫病理反应是 HCV 另一重要的致病机制,HCV 诱导产生的特异性 CTL 的直接杀伤作用、免疫活性细胞释放炎症细胞因子和自身免疫反应均可造成肝细胞损伤;此外,HCV 诱导的肝细胞凋亡也可能在 HCV 的致病过程中起作用,HCV 感染可使肝细胞大量表达 Fas 抗原,同时被激活的 CTL 大量表达 Fas 配体(FasL),CTL 与肝细胞膜上表达的 Fas 抗原结合,诱导肝细胞凋亡。

笔记

HCV 感染易于慢性化的可能机制除了与 HCV 基因组易于变异，导致免疫逃避作用有关外，还可能与 HCV 在体内呈低水平复制，病毒血症水平较低，不易诱导高水平的免疫应答或 HCV 可存在于肝外组织如外周血单核细胞中，使病毒不易被清除等因素有关。

HCV 感染后不能诱导有效的免疫保护反应。机体感染 HCV 后，虽然可产生特异性 IgM 和 IgG 型抗体，但由于病毒易于变异，不断出现免疫逃逸突变株，因此，抗体的免疫保护作用不强。HCV 感染后可诱生细胞免疫反应，但其主要作用可能是参与肝细胞损伤，而不能提供有效的免疫保护。

三、微生物学检查法

1. 检测病毒 RNA HCV RNA 的检测是判断 HCV 感染及传染性的可靠指标。目前检测 HCV RNA 的常用方法有 RT-PCR、套式 RT-PCR 和荧光定量 PCR 法，这些方法敏感性高，可检出患者血清中极微量的 HCV-RNA。荧光定量 PCR 技术不但可以定性，还可对 HCV-RNA 进行定量检测，可用于早期诊断及疗效评估。

2. 检测抗体 HCV 感染后机体可产生结构蛋白和非结构蛋白的特异性抗体，采用 C22、NS3、NS4、NS5 等基因重组蛋白为抗原，用 ELISA 法和 Western blot 法检测血清中特异性 HCV 抗体，是简便、快速、特异的检测手段，可用于丙型肝炎的诊断、筛选献血员和流行病学调查。

四、防 治 原 则

我国已规定，必须对献血员进行抗-HCV 检测，以减少 HCV 的感染和传播。对血制品亦需进行 HCV 检测以防污染。HCV 免疫原性不强，且毒株易于变异，因此疫苗的研制较为困难，**目前尚无疫苗用于特异性预防**。对丙型肝炎尚缺乏特效药物，已证明 IFN-α 对早期慢性 HCV 感染有效率较高，目前 HCV 感染的首选治疗方案是 IFN-α 和利巴韦林（RBV）联合治疗。

第四节 丁型肝炎病毒

1977 年，意大利学者 Rizzetto 在用免疫荧光法检测乙型肝炎患者的肝组织切片时，发现肝细胞内除 HBsAg 外，还有一种新的抗原，当时称其为 δ 抗原或 δ 因子。通过黑猩猩实验证实这是一种不能独立复制的**缺陷病毒**（defective virus），必须在 HBV 或其他嗜肝 DNA 病毒的辅助下才能复制，1983 年被正式命名为**丁型肝炎病毒**（hepatitis D virus，HDV）。目前 HDV 的病毒分类学地位尚未确定。

一、生物学特性

HDV 为球形，直径 35~37nm，有包膜，但包**膜蛋白并非为 HDV 的基因产物，而是由 HBV 编码产生的** HBsAg。病毒颗粒内部由 HDV RNA 和与之结合的 HDV 抗原（HDAg）组成（图 28-9）。HDV RNA 为单负链环状 RNA，长度约 1.7kb，是目前已知动物病毒中最小的基因组。



图 28-9 丁型肝炎病毒形态与结构示意图

HDAg 有 P24 和 P27 两种多肽形式，在病毒复制过程中起重要作用。若 HDAg 单独被 HBsAg 包装，可形成不含 HDV RNA 的“空壳颗粒”。HDAg 主要存在于肝细胞内，在血清中出现早，维持时间短，故不易检出。但 HDAg 可刺激机体产生抗体，可从感染者血清中检出抗-HD。应用抗-HD 还可检测肝组织中

笔记

的 HDAg。

黑猩猩、土拨鼠和北京鸭对 HDV 敏感，可作为 HDV 研究的动物模型。

二、致病性与免疫性

HDV 的传染源为急、慢性丁型肝炎患者和 HDV 携带者，传播途径与 HBV 相同，主要是血源性传播。感染后可表现为急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者。**HDV 感染有联合感染**(coinfection)和**重叠感染**(superinfection)两种类型。联合感染是指从未感染过 HBV 的正常人同时发生 HBV 和 HDV 的感染；重叠感染是指已受 HBV 感染的乙型肝炎患者或无症状的 HBsAg 携带者又继发 HDV 感染。重叠感染常可导致原有的乙型肝炎病情加重与恶化，易于发展成重型肝炎，故在发现重症肝炎时，应注意是否存在 HBV 与 HDV 的重叠感染。在感染早期，HDAg 主要存在于肝细胞核内，随后出现 HDAg 血症。目前认为 HDV 的致病机制可能与病毒对肝细胞的直接损伤作用和机体的免疫病理反应有关。HDAg 可刺激机体产生特异性 IgM 和 IgG 型抗体，但这些抗体不是中和抗体，不能清除病毒。

HDV 感染呈世界性分布，意大利、地中海沿岸国家、非洲和中东地区等为 HDV 感染的高发区。我国各地 HBsAg 阳性者中 HDV 感染率约 0~32%，北方偏低，南方较高。

HDV 与 HBV 有相同的传播途径，预防乙型肝炎的措施同样适用于丁型肝炎。由于 HDV 是缺陷病毒，如果抑制了 HBV 的增殖，则 HDV 亦不能复制，因此**通过接种 HBV 疫苗可达到预防 HDV 感染的目的**。目前对 HDV 感染尚无特效的疗法。

三、微生物学检查法

1. 抗原抗体检测 丁型肝炎病程早期，患者血清中存在 HDAg，因此**检测 HDAg 可作为 HDV 感染的早期诊断**。但 HDAg 在血清中存在时间短，平均仅 21 天左右，因此标本采集时间是决定检出率的主要因素。部分患者可有较长时间的抗原血症，但 HDAg 滴度较低，故不易检出。用 RIA 或 ELISA 法检测血清中 HDV 抗体是目前诊断 HDV 感染的常规方法，抗-HD IgM 在感染后 2 周出现，4~5 周达高峰，随之迅速下降，因此，检出抗-HD IgM 有早期诊断价值。抗-HD IgG 产生较迟，在恢复期才出现。如 HDV 抗体持续高效价，可作为慢性 HDV 感染的指标。

2. HDV RNA 检测 肝细胞内 HDAg 的检出是 HDV 感染的可靠证据，并且是 HDV 感染活动的指标，但活检标本不易获得，故不常用。此外，斑点杂交或 RT-PCR 等技术检测患者血清中或肝组织内的 HDV RNA 也是诊断 HDV 感染可靠方法。

第五节 戊型肝炎病毒

戊型肝炎病毒(hepatitis E virus，HEV)引起的戊型肝炎过去曾称为经消化道传播的非甲非乙型肝炎，1989 年，美国学者 Reyes 等成功地克隆了 HEV 基因组，并将其正式命名为 HEV。印度次大陆是戊型肝炎的高流行区，我国为地方性流行区，全国各地均有戊型肝炎发生。1986 年，我国新疆南部发生戊型肝炎大流行，约 12 万人发病，700 余人死亡，是迄今世界上最大的一次流行。

一、生物学特性

HEV 病毒呈球状，无包膜，平均直径为 32~34nm，表面有锯齿状刻缺和突起，形似杯状，曾归类于杯状病毒科，目前 HEV 的分类尚未最后确定。HEV 对高盐、氯化铯、三氯甲烷等敏感；在 -70~8℃条件下易裂解，但在液氮中保存稳定。HEV 体外培养困难，迄今仍不能在细胞中大量培养。HEV 可感染食蟹猴、非洲绿猴、猕猴、黑猩猩及乳猪等多种动物。

笔记

HEV 基因组为单正链 RNA，全长约 7.5kb，具有 poly A 尾，共有 3 个 ORF，ORF1 编码病毒复制所需的依赖 RNA 的 RNA 多聚酶等非结构蛋白，ORF2 编码病毒的衣壳蛋白，ORF3 与 ORF1 和 ORF2 有部分重叠，其编码的多肽可能具有型特异性抗原表位（图 28-10）。

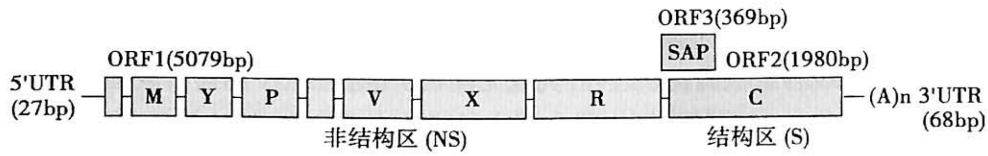


图 28-10 戊型肝炎病毒的基因结构示意图

M：甲基转移酶；Y：Y 区；P：木瓜蛋白样酶；V：脯氨酸富集铰链区；X：X 区；R：RNA 多聚酶；C：衣壳蛋白；SAP：骨架相关的磷酸化蛋白

目前认为 HEV 至少存在 8 个基因型，基因型Ⅰ和基因型Ⅱ分别以缅甸株（HEV-B）和墨西哥株（HEV-M）为代表。在我国流行的 HEV 为基因型Ⅰ和基因型Ⅳ。

二、致病性与免疫性

HEV 的传染源为戊型肝炎患者和亚临床感染者，猪、牛、羊等啮齿类动物也可携带 HEV，成为散发性戊型肝炎的传染源。HEV **主要经粪 - 口途径传播**，病毒经胃肠道进入血流，在肝细胞内复制，然后释放到血液和胆汁中，经粪便排出体外。随粪便排出的病毒污染水源、食物和周围环境而造成传播，其中水源污染引起的流行较为多见。戊型肝炎的潜伏期为 10~60 天，平均为 40 天。人感染 HEV 后可表现为临床型和亚临床型，成人中以临床型多见。**潜伏期末和急性期初的患者粪便排毒量最大，传染性最强，是本病的主要传染源。HEV 通过对肝细胞的直接损伤和免疫病理作用引起肝细胞的炎症或坏死**。临床表现与甲型肝炎相似，多为急性感染，表现为急性黄疸型肝炎和急性无黄疸型肝炎，部分急性戊型肝炎可发展成胆汁淤积型肝炎或重症肝炎。孕妇感染 HEV 后病情常较重，尤以怀孕 6~9 个月最为严重，常发生流产或死胎，病死率达 10%~20%。**戊型肝炎为自限性疾病，多数患者于发病后 6 周左右即好转并痊愈，不发展为慢性肝炎或病毒携带者**。抗-HEV IgG 常于发病后 4 周左右转为阳性，多数患者于 5~6 个月后逐渐消失。因此多数人虽然在儿童期曾感染过 HEV，至青壮年后仍可再次感染。

三、微生物学检查法

目前临床上常用的检测方法是用 ELISA 检查血清中的抗 HEV IgM 或 IgG，抗 HEV IgM 出现早，消失快，可作为早期现症患者的诊断依据。抗-HEV IgG 在血中存在时间可达数月至数年，抗 HEV IgG 阳性则不能排除既往感染。此外，可用 RT-PCR 法检测粪便或胆汁中的 HEV RNA，也可用电镜或免疫电镜技术检测患者粪便中的 HEV 颗粒。

四、防治原则

HEV 的传播途径与 HAV 相似，主要经粪 - 口途径传播，因此其一般性预防原则与甲型肝炎相同，主要是保护水源，做好粪便管理，加强食品卫生管理，注意个人和环境卫生等。**目前尚无有效疫苗和特异性抗病毒药物可供防治**。

第六节 GBV-C/HGV 和 TTV

GBV-C/HGV 和 TTV 是 20 世纪 90 年代从输血后非甲 ~ 戊肝炎患者的血清中发现的新病毒，曾被认为可能是新型肝炎相关病毒。但近年来的研究表明，GBV-C/HGV 和 TTV 在正常人群中

笔记

感染率高，感染后多表现为无症状的持续感染状态，因此，这两种病毒与病毒性肝炎的病因学关系目前尚不能确定。

1. GBV-C/HGB 1967年，Deinhardt等发现，采自1名黄疸患者的血清标本接种狷猴（tamarin）后，可使狷猴发生肝炎，并可在狷猴中传代感染，因此根据患者名字的字首将这种致病因子称为GB因子。1995年，美国科学家从接种GB因子的狷猴中获得了2个与黄病毒相关的基因序列，命名为GBV-A和GBV-B，后来的研究表明，这两种病毒为动物病毒，而不是人类病毒。随后美国科学家又从非甲～戊型肝炎患者中扩增到人GBV样核酸序列，命名为GBV-C或庚型肝炎病毒（hepatitis G virus，HGV），进一步的研究表明，GBV-C和HGV是同种病毒的不同分离株。GBV-C现归类于黄病毒科的一个新属，其形态结构和基因组特征与HCV相似，有5个基因型，各型的分布有一定的地域性。GBV-C的传染源为病毒感染者或携带者，主要经输血等胃肠道外途径传播，也存在母婴传播和医源性传播。该病毒的致病机制目前尚不清楚，研究发现，其主要在淋巴细胞内增殖，致病性很弱或没有致病性，一般不损害肝脏，可单独感染或与HBV或HCV重叠感染，单独感染时临床症状不明显，重叠感染时不加重肝细胞损害程度，因此其与输血后肝炎的相关性目前存在较大争议。

2. TTV TTV是1997年日本学者从一位姓名缩写为T.T的输血后非甲～庚型肝炎患者的血清中发现的一种新病毒，2005年国际病毒分类委员会将其正式命名为细环病毒（Torque Teno virus，TTV），归属于指环病毒（*Anellovirus*）属。TTV为单负链环状DNA病毒，病毒颗粒呈球形，无包膜，直径为30~50nm。基因组长约3.8kb，由编码区和非编码区组成，编码区至少含有4个ORF。TTV基因组呈多样性，根据ORF1核苷酸序列的差异，可将TTV分为5大基因群和至少39种基因型。TTV感染呈全球性分布，人群中感染率高，用TTV非编码区中高度保守序列建立的UTR PCR法检测，发现世界各地健康人群的感染率高达80%~100%。TTV感染也普遍存在于猪、牛、羊、猫、狗等家畜和其他动物中。TTV可通过多种途径传播，包括血液传播、粪－口传播、唾液传播、精液和乳汁传播等。TTV的致病性尚不清楚，迄今尚不能证明其能引起肝脏炎症，也不能证明其与任何一种人类疾病有必然的病因学关系。

（江丽芳）

笔记

第二十九章　虫媒病毒

虫媒病毒(arbovirus)**是指通过吸血节肢动物叮咬易感的脊椎动物而传播疾病的病毒**。节肢动物叮咬带有病毒血症的脊椎动物后受感染并终生带毒。病毒能在节肢动物体内增殖,并可经卵传代,因此**节肢动物既是病毒的传播媒介,又是储存宿主**。目前已证实的传播媒介达586种,**主要为蚊和蜱**,此外蠓、白蛉、蚋、蝽、虱、螨、臭虫和虻等亦可作为传播媒介。带毒的节肢动物媒介通过叮咬自然界的脊椎动物而在动物与动物之间传播,并维持病毒在自然界的循环,带毒的节肢动物若叮咬人类则可引起人类感染,因此,**大多数虫媒病毒病既是自然疫源性疾病,也是人兽共患病**。由于节肢动物的分布、消长和活动与自然环境和季节密切相关,所以**虫媒病毒病具有明显的地方性和季节性**。

虫媒病毒是一个生态学名称,是根据其传播方式归纳在一起的一大类病毒,在病毒分类学上隶属于不同病毒科的不同病毒属,引起不同的虫媒病毒病。虫媒病毒在全球分布广泛,种类繁多,目前国际上已发现的虫媒病毒至少有537种,其中130多种对人畜致病,导致脑炎、发热、皮疹、关节痛、出血热和休克等,严重者可引起死亡。在全球流行的虫媒病毒病主要有黄热病、登革热、流行性乙型脑炎、圣路易脑炎、西方马脑炎、东方马脑炎、森林脑炎、西尼罗热和白蛉热等,其中**在我国流行的主要有流行性乙型脑炎、森林脑炎、登革热以及新近在我国发现的基孔肯雅热和由新布尼亚病毒引起的发热伴血小板减少综合征**。

重要的虫媒病毒及其所致疾病见表29-1。

表29-1　重要的虫媒病毒及其所致疾病

病毒科、属	病毒种	传播媒介	储存宿主	所致疾病	主要分布
黄病毒科					
黄病毒属					
	登革病毒	蚊	猴	登革热或登革出血热	热带、亚热带
	乙型脑炎病毒	蚊	猪、鸟类	乙型脑炎	亚洲
	黄热病病毒	蚊	猴	黄热病	中美,南美,非洲
	科萨努尔森林热病毒	蜱	猴	科萨努尔森林热	印度
	森林脑炎病毒	蜱	鸟类、啮齿动物	森林脑炎	俄国、中国
	墨累西谷脑炎病毒	蚊	鸟类	墨累西谷脑炎	澳大利亚、新几内亚
	西尼罗病毒	蚊	鸟类	西尼罗热	非洲,欧洲、中亚、北美
披膜病毒科					
甲病毒属					
	东方马脑炎病毒	蚊	马、鸟类	东方马脑炎	北美、南美、加勒比地区
	西方马脑炎病毒	蚊	马、鸟类	西方马脑炎	北美、南美
	圣路易脑炎病毒	蚊	鸟类	圣路易脑炎	美国,加勒比地区
	委内瑞拉马脑炎病毒	蚊	马、驴	委内瑞拉马脑炎	美洲

笔记

续表

病毒科、属	病毒种	传播媒介	储存宿主	所致疾病	主要分布
	辛德毕斯病毒	蚊	鸟类	发热、皮疹、关节炎	非洲、澳大利亚、亚洲
	基孔肯雅病毒	蚊	人、猴	基孔肯雅热	非洲、亚洲
布尼亚病毒科 白蛉病毒属	白蛉病毒	白蛉		白蛉热	地中海流域，印度，中国，东非，巴拿马，巴西
	发热伴血小板减少综合征病毒	蜱		发热伴血小板减少综合征	中国

第一节　流行性乙型脑炎病毒

流行性乙型脑炎病毒（epidemic type B encephalitis virus）简称乙脑病毒。1935 年日本学者首先从脑炎死亡患者的脑组织中分离到该病毒，故国际上称为**日本脑炎病毒**（Japanese encephalitis virus，JEV）。乙脑病毒**经蚊子叮咬传播**，引起流行性乙型脑炎，简称乙脑。乙脑是我国和亚洲地区的一种严重的急性传染病，病毒**主要侵犯中枢神经系统**，严重者病死率高，幸存者常留下神经系统后遗症。

一、生物学性状

（一）形态结构

乙脑病毒为**黄病毒科**（Flaviviridae）**黄病毒属**（*Flavivirus*）成员，病毒的形态结构、基因组特征、蛋白合成及加工等与黄热病病毒、登革病毒和森林脑炎病毒等其他黄病毒高度相似。病毒颗粒呈球形，直径 45~50nm，核衣壳呈二十面体立体对称，有包膜，包膜上含有糖蛋白刺突。病毒核酸为单正链 RNA，基因组全长 10 976bp，5′ 端有Ⅰ型帽状结构，3′ 端无多聚腺苷酸（polyA）尾。5′ 端和 3′ 端各有一段非编码区，中间是编码区。编码区仅含一个开放读码框（ORF），其基因排列次序为：5′ –C–PrM–E–NS1–NS2a–NS2b–NS3–NS4a–NS4b–NS5–3′（图 29–1）。在病毒复制过程中，ORF 先转译一个由 3432 个氨基酸组成的多聚蛋白前体，然后经宿主蛋白酶和病毒蛋白酶切割加工成 3 种结构蛋白和至少 7 种非结构蛋白。

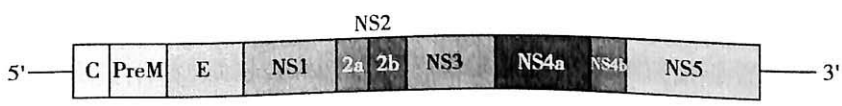


图 29–1　乙脑病毒基因组结构示意图

病毒的结构蛋白包括**衣壳蛋白**（capsid protein，C 蛋白）、**膜蛋白**（membrane protein，M 蛋白）和**包膜蛋白**（envelope protein，E 蛋白）。C 蛋白是一种碱性蛋白，富含精氨酸和赖氨酸，在病毒的复制、转录调节、装配及释放过程中起重要作用。M 蛋白是由其前体蛋白 prM 切割加工而来，存在于成熟的病毒颗粒中，是与核衣壳紧密相连的蛋白质，在病毒包装过程中，M 蛋白的羧基端可与 E 蛋白和 C 蛋白特异结合，因此，M 蛋白也参与病毒的成熟过程。E 蛋白是镶嵌在病毒包膜上的糖基化蛋白，是病毒表面的重要成分，具有与细胞表面受体结合和介导膜融合等活性，与病毒的吸附、穿入、致病等作用密切相关。E 蛋白含型特异性抗原表位和中和抗原表位，并具有血凝活性，能刺激机体产生中和抗体和血凝抑制抗体，能凝集雏鸡、鸽、鹅和绵羊的红细胞。E 蛋白还含有黄病毒属特异性和亚组特异性抗原表位，与其他黄病毒成员如**圣路易脑炎病毒**（St.Louis

笔记

encephalitis virus）和**西尼罗病毒**（West Nile virus）等有广泛的交叉抗原性。

非结构蛋白包括 NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b 和 NS5，与病毒的复制、生物合成及病毒颗粒的装配与释放密切相关。其中 NS1 存在于感染细胞表面，并可分泌到细胞外，有很强的抗原性，能诱导产生细胞免疫及体液免疫反应，其诱生的抗体虽然没有中和病毒的作用，但具有免疫保护性；NS3 是一种多功能的蛋白质，具有蛋白酶、RNA 三磷酸酶和 RNA 解旋酶的功能，并含有 T 细胞表位；NS5 具有 RNA 聚合酶和甲基转移酶活性。

乙脑病毒抗原性稳定，只有 1 个血清型，在同一地区不同年代的分离株之间未发现明显的抗原性变异，不同地区不同时间的分离株之间也无明显差异。根据 E 基因全序列的同源性，可将乙脑病毒分为 5 个基因型（Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ和Ⅴ），各基因型的分布有一定的区域性。

（二）培养特性

乙脑病毒能在白纹伊蚊 C6/36 细胞、Vero 细胞及 BHK21 细胞等多种传代和原代细胞中增殖并引起明显的细胞病变。其中 C6/36 细胞是乙脑病毒最敏感的细胞，广泛用于乙脑病毒的分离培养。小白鼠和金黄地鼠对乙脑病毒易感，脑内接种病毒后，可引起发病和死亡。乳鼠是最易感的动物，脑内接种 3~5 天后发病，表现为典型的神经系统症状，如兴奋性增高、肢体痉挛和尾强直等，最后因麻痹而死亡。感染乳鼠有病毒血症，脑组织中含有大量病毒。病毒在培养细胞中连续传代后可使毒力下降，我国研制成功的减毒活疫苗株就是将强毒株在体外连续传代后选育而来的。

（三）抵抗力

乙脑病毒对酸、乙醚和三氯甲烷等脂溶剂敏感，不耐热，56℃ 30 分钟、100℃ 2 分钟均可使之灭活。对化学消毒剂也较敏感，多种消毒剂可使之灭活。

二、流行病学特征

（一）传染源和宿主动物

乙脑病毒的主要传染源是携带病毒的猪、牛、羊、马、驴、鸭、鹅、鸡等家畜、家禽和各种鸟类。动物感染后，没有明显的症状及体征，但出现病毒血症，成为传染源。**猪是最重要的传染源和中间宿主**，特别是新生的幼猪，由于缺乏免疫力，具有高的感染率和高滴度的病毒血症。通常猪的感染高峰期比人群的发病高峰期早 3 周左右，因此可通过检查猪的感染率预测当年的流行趋势。人感染病毒后仅发生短暂的病毒血症，且血中病毒滴度不高，所以**患者不是主要的传染源**。此外，蝙蝠经带毒蚊子叮咬后可出现长达 6 天的病毒血症，并可带毒越冬，因此认为蝙蝠也可能是乙脑病毒的传染源和长期宿主。

（二）传播媒介和传播途径

乙脑病毒的主要传播媒介是三带喙库蚊（*Culex tritaeniorhymchus*），此外，致乏库蚊、白纹伊蚊、二带喙库蚊、雪背库蚊、中华按蚊等亦可带毒。除蚊子外，在蠛蠓、尖蠓及库蠓中也分离到乙脑病毒，因此，这些昆虫也可能是乙脑病毒的传播媒介。蚊子吸血后，病毒先在其肠上皮细胞中增殖，然后进入血液并移行至唾液腺，通过叮咬猪、牛、羊、马等家畜或禽类等易感动物而传播。受感染的蚊子可带毒越冬并可经卵传代，因此**蚊子既是传播媒介又是重要的储存宿主。病毒通过蚊子在蚊—猪—蚊等动物中不断循环，其间带毒蚊子若叮咬人类，则可引起人类感染。**

（三）流行地区和季节

乙脑主要在亚洲的热带和亚热带国家和地区流行。我国是乙脑的主要流行区，除青海、新疆和西藏外均有乙脑流行。乙脑的流行与蚊虫的密度有关，在热带地区，蚊虫一年四季均可繁殖，故全年均可发生流行或散发流行。**在亚热带和温带地区则有明显的季节性，流行季节与蚊子密度的高峰期一致**，以夏、秋季流行为主，80%~90% 病例集中在 7、8、9 三个月内。

笔记

(四) 易感人群

人群对乙脑病毒普遍易感，但感染后多表现为隐性感染及顿挫感染，显性感染与隐性感染的比例约为1∶300。由于成人多由隐性感染获得了免疫力，因此**以10岁以下的儿童发病者居多**，尤以2~9岁年龄组发病率较高。近年来由于在儿童中普遍接种疫苗，故成年人和老年人的发病率相对增高。

三、致病性与免疫性

(一) 致病性

病毒经带毒蚊子叮咬进入人体后，先在皮肤毛细血管内皮细胞和局部淋巴结等处增殖，经毛细血管和淋巴管进入血流，引起**第一次病毒血症**。病毒随血流播散到肝、脾等网状内皮系统的细胞中继续大量增殖后，再次入血，引起**第二次病毒血症**，临床上表现为发热、头痛、寒战、全身不适等流感样症状。绝大多数感染者病情不再继续发展，成为**顿挫感染**(abortive infection)。但少数免疫力不强的患者，**病毒可突破血脑屏障侵犯中枢神经系统**，在脑组织神经细胞内增殖，引起神经细胞变性、坏死、脑实质和脑膜炎症，**出现中枢神经系统症状**，表现为高热、头痛、意识障碍、抽搐和脑膜刺激征等，严重者可进一步发展为昏迷、中枢性呼吸衰竭或脑疝，**病死率可高达10%~30%，约5%~20%的幸存者留下后遗症**，表现为痴呆、失语、瘫痪及精神障碍等。

乙脑病毒的致病机制目前尚未完全清楚。研究表明，**免疫病理反应可能起重要作用**。在感染早期，病毒可诱导单核巨噬细胞分泌某些细胞因子，如MDF(macrophage derived neutrophil chemotactic factor)、IL-6等，这些细胞因子可增加血脑屏障的通透性，使病毒易于侵入中枢神经系统感染神经细胞。病毒感染还可使脑组织巨噬细胞、神经胶质细胞和T淋巴细胞释放多种炎症细胞因子，如TNF-α、IL-8、IFN-α和趋化因子RANTES等，从而引起炎症反应和细胞损伤。急性期患者循环免疫复合物检出率高，补体含量降低，提示免疫复合物可能参与病毒的致病过程。此外，病毒感染诱导的细胞凋亡也可能在病毒的致病过程中起一定的作用。

(二) 免疫性

乙脑病毒抗原性稳定，**病后免疫力稳定而持久，隐性感染也可获得牢固的免疫力**。机体对乙脑病毒的免疫包括体液免疫、细胞免疫和完整的血脑屏障。其中体液免疫起主要作用，感染后机体可产生具有中和作用的特异性IgM、IgG抗体和血凝抑制抗体。此外，亦可产生补体结合抗体，但这类抗体无免疫保护作用。

四、微生物学检查法

1. 病毒分离培养 可采集发病初期患者的血清或脑脊液用细胞培养法或乳鼠脑内接种法分离培养乙脑病毒，但阳性率不高。病毒的鉴定可采用观察细胞病变、红细胞吸附试验、病毒中和试验、免疫荧光试验或基因鉴定分析等方法。

2. 病毒抗原检测 可用免疫荧光或ELISA技术检测发病初期患者血液或脑脊液中的乙脑病毒抗原，阳性结果对早期诊断有重要意义。

3. 血清学试验 血清学试验包括用血凝抑制试验、ELISA等检测特异性抗体。乙脑病毒特异性IgM抗体一般在感染后4天开始出现，2~3周达高峰，采用IgM抗体捕获的ELISA法检测患者血清或脑脊液中的特异性IgM抗体，阳性率可达90%以上，因此可用于早期快速诊断。乙脑病毒特异性IgG抗体检测通常需检测急性期和恢复期双份血清，当恢复期血清抗体效价比急性期升高4倍或4倍以上时，才有诊断价值。

4. 病毒核酸检测 用实时RT-PCR或RT-PCR技术检测乙脑病毒特异性核酸片段是一种特异而敏感的诊断方法，近年来已广泛用于乙脑的早期快速诊断。

笔记

五、防治原则

目前对乙型脑炎尚无特效的治疗方法。**预防乙型脑炎的关键措施包括疫苗接种、防蚊灭蚊和动物宿主管理。**

乙脑疫苗有灭活疫苗和减毒活疫苗两大类。国际上广泛使用的乙脑疫苗主要是鼠脑纯化灭活疫苗。我国自1968年以来使用地鼠肾细胞培养的灭活疫苗对儿童进行**计划免疫**，有效地控制了乙脑的流行。1988年我国研制成功了地鼠肾细胞来源的**乙脑减毒活疫苗**，可诱导体液免疫和细胞免疫应答，具有良好的免疫保护效果，现已在国内广泛应用。猪是乙脑病毒的主要传染源和中间宿主，因此通过做好猪的管理工作或对猪群进行免疫预防可以降低人群的发病率。

第二节 登革病毒

登革病毒(dengue virus，DENV)**是登革热**(dengue fever，DF)、**登革出血热／登革休克综合征**(dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome，DHF /DSS)**的病原体。埃及伊蚊**(*A. aegypti*)**和白纹伊蚊**(*A. albopictus*)是登革病毒的主要传播媒介，人类和灵长类动物是登革病毒的自然宿主。登革热广泛流行于全球热带、亚热带的100多个国家和地区，其中以东南亚和西太平洋地区的流行最为严重。自1978年以来，我国南方也不断发生登革热的流行或暴发流行。近年来，由于全球气候变暖和国际人口大量流动等原因，登革热的流行范围有不断扩大的趋势。目前，登革热已成为**世界上分布最广、发病最多的虫媒病毒病**。

一、生物学性状

(一) 形态结构

登革病毒是黄病毒科黄病毒属的成员，其形态、结构和基因组特征与乙脑病毒相似。根据抗原性不同，可将登革病毒分为**四个血清型**(DENV1~DENV4)，各型病毒间有交叉抗原性。

登革病毒的基因组为单正链RNA，长约11kb，基因组5′端和3′端为非编码区，中间为开放读码框(ORF)，**编码3种结构蛋白和至少7种非结构蛋白**。3种结构蛋白分别是衣壳蛋白(C蛋白)、膜蛋白(M蛋白)和包膜蛋白(E蛋白)。C蛋白为一种非糖基化蛋白，具有特异的抗原表位，但一般不诱导机体产生中和性抗体。M蛋白由prM蛋白经蛋白酶裂解而来，是一种非糖基化膜蛋白。E蛋白是病毒的主要包膜糖蛋白，在病毒的致病和免疫过程中起十分重要的作用。E蛋白能与易感细胞表面的特异性受体结合，并含有与融合相关的结构域，因此与病毒的吸附、穿入和细胞融合有关；E蛋白含有型特异性、亚群特异性、群特异性、黄病毒亚组特异性、黄病毒组特异性等抗原表位，是登革病毒分型的依据；E蛋白还具有中和抗原表位，能诱导机体产生中和抗体；E蛋白具有血凝素活性，能凝集鹅或鸽红细胞；此外，E蛋白还可能与**抗体依赖的感染增强作用**(antibody-dependent enhancement，ADE)有关。非结构蛋白包括NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b、NS5，存在于病毒感染的细胞中，是登革病毒的酶或调节蛋白，与病毒的复制、蛋白加工及病毒装配密切相关，其中NS1蛋白在病毒复制和抗感染免疫过程中起重要的作用。

(二) 培养特性

小白鼠乳鼠是登革病毒最敏感、最常用的实验动物。猩猩、猕猴和长臂猿等灵长类动物对登革病毒易感，并可诱导特异性免疫反应，可以作为疫苗研究的动物模型。多种哺乳类及昆虫来源的传代细胞对登革病毒敏感，其中白纹伊蚊C6/36细胞是最常用的细胞，病毒在细胞中增殖并引起明显的细胞病变。登革病毒也可在人单核细胞和人血管内皮细胞中增殖，但不引起明显的细胞病变。

笔记

二、流行病学特征

在自然界，**人和灵长类动物是登革病毒的主要储存宿主，白纹伊蚊和埃及伊蚊是主要传播媒介**。在热带和亚热带丛林地区，猴类和猩猩等灵长类动物对登革病毒易感，是丛林型登革热的主要传染源。动物感染后不出现明显的症状及体征，但有病毒血症，蚊子通过叮咬带毒动物而形成病毒在自然界中的原始循环，人类若进入疫源地，可被带毒蚊子叮咬而感染。在城市和乡村地区，**患者和隐性感染者是主要传染源**，感染者在发病前24小时到发病后5天内出现病毒血症，血液中含有大量的病毒，在此期间通过蚊虫叮咬而传播，形成**人—蚊—人循环**。

登革热广泛分布于热带和亚热带有蚊虫媒介存在的地方，在东南亚、南亚、西太平洋、大洋洲、加勒比海、拉丁美洲等地常发生流行或暴发流行。**我国南方的许多地区也不断发生登革热的流行或暴发流行**。在流行期间，短期内可使大量人群发病。流行季节与蚊虫的消长一致。

人群对登革病毒普遍易感，但在地方性流行区，儿童发病率较高，绝大多数DSS/DHF病例发生于儿童。

三、致病性与免疫性

登革病毒进入人体后，先在毛细血管内皮细胞和单核细胞系统中增殖，然后经血流播散，引起疾病。**登革病毒感染可表现为两种不同的临床类型：DF和DHF/DSS**，前者也称为典型登革热，为**自限性疾病**，病情较轻，以高热、头痛、皮疹、全身肌肉和关节疼痛等为典型临床特征。其发热一般持续3~7天后骤退至正常，部分患者在热退后1~5天体温又再次升高，表现为**双峰热或马鞍热**(saddleback fever)。少数患者疼痛剧烈，因此，登革热也被称为"**断骨热**"。**DHF/DSS是登革热的严重临床类型**，病情较重，初期有典型登革热的症状体征，随后病情迅速发展，出现严重出血现象，表现为皮肤大片紫癜及瘀斑、鼻出血、消化道及泌尿生殖道出血等，并可进一步发展为出血性休克，病死率高。**DSS/DHF的主要病理改变是全身血管通透性增高，血浆渗漏而导致广泛的出血和休克**，其发病机制至今尚未完全清楚，目前普遍认为与ADE作用有关。该理论认为，单核巨噬细胞为登革病毒的靶细胞，初次感染登革病毒后机体可产生非中和性或亚中和浓度的IgG抗体，当再次感染同型或异型登革病毒时，病毒与这些抗体形成免疫复合物，通过单核巨噬细胞表面的Fc受体与单核巨噬细胞结合，从而增强了病毒对细胞的吸附和感染作用。此外，单核巨噬细胞和活化的T细胞过度释放炎性细胞因子以及抗原抗体免疫复合物激活补体系统等亦可导致毛细血管通透性增加，血浆渗漏，引起出血和休克等严重症状。

四、微生物学检查法

1. 病毒的分离培养 采集早期患者血清接种白纹伊蚊C6/36细胞或乳鼠脑内接种进行病毒的分离培养，亦可用白纹伊蚊或埃及伊蚊胸腔接种法分离培养病毒。

2. 血清学试验 应用抗体捕获ELISA法或免疫层析法检测登革热患者血清中特异性IgM抗体，是最常用的登革热早期快速诊断技术。用ELISA法或免疫层析法检测血清中特异性IgG抗体也广泛用于登革热的实验室诊断。特异性IgG抗体检测需取急性期和恢复期双份血清，恢复期血清IgG抗体水平比急性期呈4倍或4倍以上升高有诊断意义。此外，在登革病毒感染早期，NS1抗原即大量表达在感染细胞表面并存在于感染者的血液中，因此用ELISA法检测患者血清中登革病毒NS1抗原亦可对登革热进行早期快速诊断。

3. 病毒核酸检测 应用实时RT-PCR或RT-PCR技术检测登革病毒核酸，可用于病毒的早期快速诊断及病毒分型。

笔记

五、防治原则

目前登革病毒疫苗尚未研究成功，亦无登革热的特效治疗方法，防蚊、灭蚊是预防登革热的主要手段。

第三节 森林脑炎病毒

森林脑炎病毒（forest encephalitis virus）又称为**蜱传脑炎病毒**（tick-borne encephalitis virus，TBEV），**森林中的蝙蝠及啮齿类动物为储存宿主，蜱为传播媒介，引起以中枢神经系统病变为特征的森林脑炎**。因该病首先在俄罗斯的远东地区发现，以春夏季发病为主，故又称为俄罗斯春夏脑炎（Russian spring-summer encephalitis）。森林脑炎主要流行于俄罗斯、东欧、北欧以及我国东北和西北林区。我国西南地区可能存在自然疫源地。

森林脑炎病毒隶属于黄病毒科黄病毒属，其形态结构、基因组特征和培养特性等均与其他黄病毒属成员相似。森林脑炎病毒可分为三个亚型，即欧洲亚型、远东亚型、西伯利亚亚型。不同来源的毒株毒力差异较大，但抗原性较一致。森林脑炎患者的血清与乙型脑炎和圣路易脑炎患者血清在血凝抑制试验中有交叉反应。森林脑炎病毒动物感染范围广，以小鼠的敏感性最高，多种接种途径均能使之感染。

森林脑炎是一种中枢神经系统的急性传染病，森林中的蝙蝠、野鼠、松鼠、野兔、刺猬等野生动物以及牛、马、羊等家畜均可作为传染源。蜱是传播媒介，如全沟硬蜱、蓖子硬蜱和微小牛蜱等。病毒不仅能在蜱体内增殖，还能经卵传代，并能在蜱体内越冬，因此**蜱既是传播媒介又是储存宿主**。在自然疫源地，病毒通过蜱叮咬野生动物和野鸟而在自然界循环。人类进入自然疫源地被带毒蜱类叮咬而受感染。**病毒亦可通过胃肠道传播，感染病毒的山羊可通过乳汁排出病毒，饮用含病毒的生羊奶可引起感染**。此外，实验室工作者和与感染动物密切接触者还可通过**吸入气溶胶感染**。人感染病毒后，大多数表现为隐性感染，少数感染者经 7~14 天的潜伏期后突然发病，出现高热、头痛、呕吐，颈项强直、昏睡、肢体弛缓性瘫痪等症状。重症患者可出现发音困难、吞咽困难、呼吸及循环衰竭等延髓麻痹症状，病死率可高达 30%。**显性感染和隐性感染均可获得持久的免疫力**。

病原学诊断主要有病毒的分离培养和血清学试验。但由于病毒血症时间短，发病初期血中病毒含量已很低，故病毒分离的阳性率不高。血清学试验有 ELISA、血凝抑制试验、中和试验及补体结合试验等，若恢复期血清 IgG 抗体水平呈 4 倍以上升高则有诊断价值。

目前对森林脑炎没有特效的治疗方法，在感染早期，大剂量丙种球蛋白或免疫血清可能有一定的疗效。疫苗接种是控制森林脑炎的重要措施，完成森林脑炎病毒灭活疫苗全程免疫后可获得免疫保护作用。

第四节 发热伴血小板减少综合征病毒

发热伴血小板减少综合征病毒（severe fever with thrombocytopenia syndrome virus，SFTSV）是我国在 2009 年首次从发热伴血小板减少综合征的患者体内分离到的一种新的布尼亚病毒。通过对病毒全基因组序列分析和电子显微镜形态观察，确认该病毒为布尼亚病毒科白蛉病毒属的一种新病毒。

SFTSV 感染引起**发热伴血小板减少综合征**（severe fever with thrombocytopenia syndrome，SFTS），临床主要表现为发热、白细胞减少、血小板减少和多器官功能损害等，严重者可因多器官衰竭而死亡。SFTSV 的**传播媒介和自然宿主尚未完全明了**。目前认为，**蜱可能是 SFTSV 的传**

笔记

播媒介，蜱叮咬可致人类感染。急性期患者血液和血性分泌物具有传染性，直接接触患者血液或血性分泌物亦可导致感染。 SFTS 流行季节主要在春夏季，病例主要分布在山区和丘陵地带的农村地区，多呈散发流行，亦有少数为聚集性病例。人群对 SFTSV 普遍易感，从事野外作业和户外活动的人群感染风险较高。目前，SFTS 主要流行于我国河南、湖北、山东、安徽、辽宁、江苏等10余个省市。迄今，国外尚无 SFTS 病例报道。

SFTSV 感染的微生物学检查主要包括用 Vero 或 Vero E6 等敏感细胞分离培养病毒、用实时定量 PCR 检测病毒核酸、用 ELISA 法检测血清中的 SFTSV 特异性 IgM 或 IgG 抗体等。目前对 SFTS 尚无特异性治疗手段，临床上主要是采取对症支持治疗疗法，绝大多数患者预后良好。

第五节　西尼罗病毒

西尼罗病毒（West Nile virus，WNV）在分类上属于黄病毒科黄病毒属，因 1937 年首次从乌干达西尼罗地区的发热患者体内分离成功而得名。人类及多种动物，如鸟类、马、猪、鸡等对西尼罗病毒易感。患者、隐性感染者和带毒动物为主要传染源。其中**鸟类是最重要的传染源**，病毒可在鸟的体内大量繁殖，形成高水平的病毒血症。伊蚊和库蚊是主要传播媒介。病毒可在蚊子的唾液腺及神经细胞中大量增殖，一周左右受感染的蚊子即具有传染性，并可终年带毒。此外，病鸟的口腔和泄殖腔分泌物中均含有大量病毒，因此，病毒亦可通过直接接触在鸟与鸟之间传播。

西尼罗病毒感染可引起西尼罗热和西尼罗脑炎两种临床类型。 前者以急性发热、头痛、乏力、皮疹为主要特征，可伴有肌肉、关节疼痛及全身淋巴结肿大等，预后良好。后者起病急骤，体温 39℃以上，出现头痛、恶心、呕吐、嗜睡，伴颈项强直、深浅反射异常等神经系统症状和体征，重症患者出现惊厥、昏迷及呼吸衰竭，病死率高。

西尼罗病毒感染广泛分布于非洲、中东、欧洲、东南亚（西南亚）及澳大利亚。1999 年夏天，本病传入美洲，美国纽约首先发现病例，随后在北美洲迅速传播。患者表现为高热、头痛、意识障碍、弛缓性瘫痪等脑炎的症状和体征。本病在美国出现的同时，当地有大批候鸟死亡。分子流行病学的研究结果表明，本病可能是通过受感染的候鸟或蚊子从中东传至美洲的。西尼罗病毒抗原性稳定，只有一个血清型，病后免疫力持久。西尼罗病毒与乙脑病毒和登革病毒等黄病毒属的其他成员有共同抗原，可诱导交叉免疫保护作用。目前我国尚未发现西尼罗病毒感染的病例，但是我国具备西尼罗病毒传播的气候条件和传播媒介，因此，必须重视对该病毒的监测和研究。

（江丽芳）

笔记

第三十章　出血热病毒

出血热(hemorrhagic fever)不是某一种疾病的名称,而是一大类疾病的统称。这类疾病在临床上以“3H”症状,即 hyperpyrexia(高热)、hemorrhage(出血)、hypotension(低血压)为主要的共同特征,并有较高的病亡率;而不同之处主要表现在发热的程度、热型,出血的程度、部位,以及损害的脏器等。

引起出血热的病毒种类较多,它们分属于 5 个病毒科的 7 个病毒属,并经由不同的媒介和途径传播,引起不同的出血热(表 30–1)。**我国目前已发现的出血热病毒主要有汉坦病毒、登革病毒和克里米亚 – 刚果出血热病毒。**

表 30–1　人类出血热病毒及其所致疾病

病毒类属	病 毒	主要媒介	所致疾病	主要分布
布尼亚病毒科	汉坦病毒	啮齿动物	肾综合征出血热	亚洲、欧洲、非洲、美洲
			汉坦病毒肺综合征	美洲、欧洲
	克里米亚 – 刚果出血热病毒	蜱	克里米亚 – 刚果出血热	非洲、中亚、中国新疆
	Rift 山谷热病毒	蚊	Rift 山谷热	非洲
黄病毒科	登革病毒	蚊	登革热	亚洲、南美
	黄热病病毒	蚊	黄热病	非洲、南美
	Kyasanur 森林热病毒	蜱	Kyasanur 森林热	印度
	鄂目斯克出血热病毒	蜱	鄂目斯克出血热	俄罗斯
披膜病毒科	基孔肯雅病毒	蚊	基孔肯雅热	亚洲、非洲
沙粒病毒科	Junin 病毒	啮齿动物	阿根廷出血热	南美
	马丘波病毒	啮齿动物	玻利维亚出血热	南美
	Lassa 病毒	啮齿动物	Lassa 热	非洲
	Sabia 病毒	啮齿动物	巴西出血热	南美
	Guanarito 病毒	啮齿动物	委内瑞拉出血热	南美
丝状病毒科	埃博拉病毒	未确定	埃博拉出血热	非洲、美洲
	马堡病毒	未确定	马堡出血热	非洲、欧洲

第一节　汉 坦 病 毒

汉坦病毒属于**布尼亚病毒科**(Bunyaviridae)**汉坦病毒属**(*Hantavirus*)。该病毒名称来自汉坦病毒属的原型病毒**汉滩病毒**(Hantaan virus),为避免在区分属及型的名称时发生混乱,故在译名用字上加以区别。在中文文献中使用“汉坦病毒”时一般是泛指,既表示汉坦病毒这一属,也泛指这一属的各型病毒;而用“汉滩病毒”时则是特指,即指汉坦病毒属中的一个型别——汉滩型。根据汉坦病毒的抗原性和基因结构特征的不同,目前已知汉坦病毒属至少包括 20 多个不同的型别(表 30–2),有些型别的汉坦病毒还可进一步分为不同的亚型。

汉坦病毒在临床上主要引起两种急性传染病,一种是以发热、出血、急性肾功能损害和免疫功能紊乱为主要特征的**肾综合征出血热**(hemorrhagic fever with renal syndrome,HFRS);另一种

笔记

是以肺浸润及肺间质水肿，迅速发展为呼吸窘迫、衰竭为特征的**汉坦病毒肺综合征**（hantavirus pulmonary syndrome，HPS）。

表 30-2 汉坦病毒属的主要型别及其所致疾病

病毒型别（英文简称）	主要宿主	所致疾病	主要分布地区
汉滩病毒（HTNV）	黑线姬鼠	HFRS	中国、俄罗斯、韩国、朝鲜、日本
汉城病毒（SEOV）	褐家鼠	HFRS	世界分布
多布拉伐病毒（DOBV）	黄喉姬鼠	HFRS	巴尔干
普马拉病毒（PUUV）	棕背鼠	HFRS	欧洲、俄罗斯、斯堪的纳维亚
泰国病毒（THAIV）	板齿鼠	HFRS	泰国
希望山病毒（PHV）	草原田鼠	不详	美国、加拿大
哈巴罗夫斯克病毒（KHB）	东方田鼠	不详	俄罗斯
索塔帕拉雅病毒（TPMV）	臭鼩	不详	印度
图拉病毒（TULV）	普通田鼠	不详	欧洲
辛诺柏病毒（SNV）	鹿鼠	HPS	美国、加拿大
纽约病毒（NYV）	白足鼠	HPS	美国
黑港渠病毒（BCCV）	棉鼠	HPS	美国
长沼病毒（BAYV）	米鼠	HPS	美国
安第斯病毒（ANDV）	长尾米鼠	HPS	阿根廷
El Moro Canyon（ELMCV）	西方巢鼠	不详	美国、墨西哥
Topgrafov（TOPV）	西伯利亚旅鼠	不详	西伯利亚
岛景病毒（ISLAV）	加州田鼠	不详	美国
Bloodland Lake（BLLV）	橙腹田鼠	不详	美国
Muleshoe（MULV）	棉鼠	不详	美国
Rio Segundo（RIOSV）	墨西哥巢鼠	不详	哥斯达黎加
Rio Mamore（RIOM）	小耳米鼠	不详	玻利维亚

中国是世界上 HFRS 疫情最严重的国家，流行范围广、发病人数多、病死率较高；迄今为止，我国尚未见 HPS 的病例报道。因此，本节主要以 HFRS 为例来介绍汉坦病毒。

一、生物学性状

（一）形态结构

汉坦病毒的核酸类型为**单股负链 RNA，分为 L、M、S 三个片段**，分别编码病毒的 RNA 聚合酶（L）、**包膜糖蛋白**（G1 和 G2）和**核衣壳蛋白**（NP）。不同血清型汉坦病毒的 S、M、L 三个片段的末端 14 个核苷酸序列高度保守，3′ 端为 AUCAUCAUCUGAGG，5′ 端为 UAGUAGUAG（G/A）CUCC，这些互补序列可使病毒基因组 RNA 通过非共价的碱基配对形成环状或柄状结构，从而保持 RNA 的稳定性，并可能与病毒的复制和装配有关。

汉坦病毒颗粒具有多形性，多数呈圆形或卵圆形，直径为 75~210nm（平均 120nm）；汉坦病毒的这种多形性在新分离的病毒表现得尤为明显，而连续体外传代培养其形态及大小便趋于一致。病毒颗粒表面有双层脂质包膜，包膜表面有由 G1 和 G2 糖蛋白组成的突起。汉坦病毒的 NP 具有很强的免疫原性，可刺激机体的体液免疫和细胞免疫应答；G1 和 G2 糖蛋白上均有中和抗原位点和血凝活性位点（图 30-1）。病毒在 pH 5.6~6.4 时可凝集鹅红细胞。

笔记

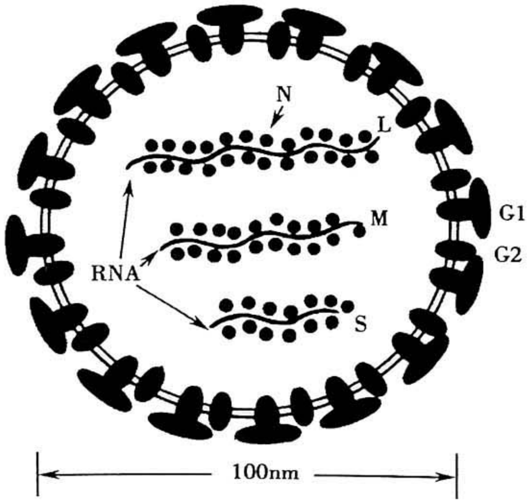


图 30-1 汉坦病毒结构模式图
L、M、S 为基因节段；N 为核衣壳蛋白

(二) 培养特性

多种传代、原代及二倍体细胞均对汉坦病毒敏感。实验室常用非洲绿猴肾细胞(Vero E6)来分离培养该病毒。汉坦病毒**在培养的细胞中生长较为缓慢**，病毒滴度一般在接种病毒后的 7~14 天后才达高峰。不同型别甚至同一型别的不同病毒株在细胞中的生长速率有一定的差别，这主要与病毒在培养系统中的适应性有关，与病毒致病性的强弱可能也有一定关系。目前适合汉坦病毒生长的几种细胞系在病毒感染后大多并不产生明显的细胞病变(CPE)，通常需采用免疫学方法来检测证实；在部分毒株感染的 Vero 细胞中可观察到典型的 CPE，其特征为感染细胞的黏聚、融合及出现网格样改变。

汉坦病毒对大多数啮齿动物(黑线姬鼠、小白鼠、大白鼠、长爪沙鼠等)均呈自限性的隐性感染，仅有小白鼠乳鼠和几种免疫缺陷动物(如裸鼠、接受免疫抑制剂的金黄地鼠和猕猴等)在接种感染后可呈不同的发病症状甚至死亡。

(三) 抵抗力

汉坦病毒抵抗力不强。对酸和脂溶剂(如乙醚、三氯甲烷、丙酮、苯等)敏感；一般消毒剂如苯扎溴铵等能灭活病毒；56~60℃ 1 小时、紫外线照射(50 cm、1 小时)以及 ^{60}Co 照射等也可灭活病毒。

二、流行病学特征

(一) 传染源和储存宿主

HFRS 是一种多宿主性的自然疫源性疾病，其**主要宿主动物和传染源均为啮齿动物**，在啮齿动物中又主要是鼠科中的姬鼠属、家鼠属和仓鼠科中的林䶄属、白足鼠属等。一般认为汉坦病毒有较严格的宿主特异性，不同型别的汉坦病毒有着不同的啮齿动物宿主，因此，不同型别汉坦病毒的分布主要是由宿主动物的分布不同所决定的。

(二) 传播途径

HFRS 的传播途径尚未完全确定，目前认为可能的途径有 3 类 5 种，即动物源性传播(包括通过呼吸道、消化道和伤口途径)、垂直(胎盘)传播和虫媒(螨媒)传播。其中**动物源性传播是主要的传播途径**，即携带病毒的动物通过唾液、尿、粪等排出病毒污染环境，人或动物通过呼吸道、消化道摄入或直接接触感染动物受到传染。感染病毒的孕妇有可能经胎盘将病毒传给胎儿；带毒孕鼠亦可将病毒传给胎鼠。虽然能够从 HFRS 患者的血、尿中分离到病毒，但尚未见在人－人之间水平传播 HFRS 的报道；只是在 HPS 中证实了存在人－人之间的水平传播。

(三) 易感人群

人类对汉坦病毒普遍易感，但多呈隐性感染，仅少数人发病；正常人群的隐性感染率因病毒型别和生产、生活条件的不同而异，从 1%~20% 不等。

(四) HFRS 的流行地区和季节

HFRS 的发生和流行具有明显的地区性和季节性，这与宿主动物的分布与活动密切相关。在我国，汉坦病毒的主要宿主动物和传染源是**黑线姬鼠和褐家鼠**，主要存在着姬鼠型(汉滩型)疫区、家鼠型(汉城型)疫区和混合型疫区。姬鼠型疫区的 HFRS 流行高峰在 11~12 月间(6~7 月间还有一小高峰)，家鼠型疫区的流行高峰在 3~5 月间，而混合型疫区在冬、春季均可出现流行高峰。

笔记

三、致病性与免疫性

（一）致病性

HFRS 的潜伏期一般为两周左右，起病急，发展快。典型病例具有三大主症，即发热、出血和肾脏损害；典型临床经过分为发热期、低血压休克期、少尿期、多尿期和恢复期。

HFRS 的发病机制及病理变化很复杂，有些环节尚未完全搞清；目前认为与病毒的直接损伤作用和免疫病理损伤作用均有关。

1. **病毒的直接损伤作用**　汉坦病毒具有泛嗜性，可感染体内的多种组织细胞，如血管内皮细胞、淋巴细胞、单核巨噬细胞、血小板等，但主要的靶细胞是血管内皮细胞。病毒在血管内皮细胞内增殖，引起细胞肿胀和损伤、细胞间隙形成、血管通透性增加；感染的单核细胞可携带病毒向其他组织扩散。

2. **免疫病理损伤**　汉坦病毒诱导的**机体免疫（包括体液免疫和细胞免疫）具有双重作用**，既参与机体对病毒的清除，又可介导对机体的免疫损伤，参与病毒的致病过程。①体液免疫反应：HFRS 患者早期血清中 IgE 和组胺水平明显增高，毛细血管周围有肥大细胞浸润和脱颗粒，说明存在 Ⅰ 型超敏反应；在 HFRS 发病早期患者血中即产生大量特异性抗体，并迅速形成循环免疫复合物，沉积到小血管、毛细血管、血小板、肾小球、肾小管基底膜等处，随之激活补体，促使肥大细胞以及受损血小板释放血管活性物质、凝血因子等参与血管扩张和通透性增加的作用，引起血管和组织的病理损伤，产生低血压、休克和肾脏功能障碍；大量血小板聚集、破坏并发生功能障碍等，是引起广泛出血的原因之一，以上均表明Ⅲ型变态反应参与了发病。②细胞免疫反应：HFRS 患者急性期外周血中特异性 $CD8^+$ T 细胞、NK 细胞活性增强，IFN、TNF、sIL-2 受体水平明显增高，IL-2 水平下降，提示细胞免疫可能在汉坦病毒的致病过程中也具有其重要作用。

（二）免疫性

HFRS 患者在发热 1~2 天即可检测出 IgM 抗体，第 7~10 天达高峰；第 2~3 天可检测出 IgG 抗体，第 14~20 天达高峰，可持续多年甚至终生；但隐性感染产生的免疫力则不持久。近年来的研究表明，在不同的抗体成分中，对机体起免疫保护作用的主要是由病毒包膜糖蛋白刺激产生的中和抗体，细胞免疫在对机体的免疫保护中也起重要作用。HFRS **病后可获稳定而持久的免疫力**，二次发病者极为罕见。

四、微生物学检查法

（一）病毒分离

病毒分离只用于少数情况下，如某一地区第一例 HFRS 患者的确定或怀疑感染新的病毒亚型等。取患者急性期血液（或死者脏器组织）或感染动物肺、脑等组织接种于 Vero E6 细胞，培养 7~14 天后，用免疫荧光染色法检查细胞内是否有病毒抗原，胞浆内出现黄绿色颗粒状荧光为阳性。也可取检材通过颅内接种小白鼠乳鼠，逐日观察动物有无发病或死亡，并定期取动物脑、肺等组织，用免疫荧光法或 ELISA 法检查是否有病毒抗原。用细胞或动物分离培养阴性者应继续盲传，连续三代阴性者方能肯定为阴性。

（二）血清学检查

1. **检测特异性 IgM 抗体**　特异性 IgM 抗体在发病后 1~2 天即可检出，早期阳性率可达 95% 以上，不典型病例或轻型病例亦是如此，因此检测出此抗体具有早期诊断价值。检测方法有间接免疫荧光法和 ELISA，后者又可分为 IgM 捕捉法和间接法，其中以 **IgM 捕捉法的敏感性和特异性为最好**。

2. **检测特异性 IgG 抗体**　病后特异性 IgG 抗体出现也较早，且维持时间很长，因此需检测双份血清（间隔至少 1 周），第二份血清抗体滴度升高 4 倍以上方可确诊。常用检测方法为间接

笔记

免疫荧光法和 ELISA。此两种方法还可用于 HFRS 的血清流行病学调查。

五、防 治 原 则

(一) 预防

一般预防主要采取灭鼠、防鼠、灭虫、消毒和个人防护措施。目前国内使用的 HFRS **疫苗**主要是细胞培养灭活双价疫苗(汉滩型和汉城型),接种人体后可刺激产生特异性抗体,对预防 HFRS 有较好效果。

(二) 治疗

对于 HFRS 早期患者,一般均采用卧床休息,以及以"**液体疗法**"(输液调节水与电解质平衡)为主的综合对症治疗措施,利巴韦林具有一定疗效。

国内研制的"注射用抗肾综合征出血热病毒单克隆抗体"已完成三期临床试验,结果表明其安全性好,疗效确切,并优于常规治疗药物。

第二节 克里米亚 – 刚果出血热病毒

克里米亚 – 刚果出血热病毒(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)引起以发热、出血、高病死率为主要特征的克里米亚 – 刚果出血热。该病 1944 年首先发现于前苏联的克里米亚半岛,1967 年从患者及疫区捕获的硬蜱中分离到病毒,并证实该病毒与 1956 年从刚果的一名发热儿童中分离到的病毒相同,于是命名为克里米亚 – 刚果出血热病毒。1965 年,我国新疆部分地区发生了一种以急性发热伴严重出血为特征的急性传染病,该病与当时国内其他地区流行的出血热不同,故定名为新疆出血热;后来从患者的血液、尸体内脏及疫区捕获的硬蜱中分离出了病毒,经形态学和血清学等研究证实,该病毒与已知的克里米亚 – 刚果出血热病毒相同。因此,新疆出血热实际上是克里米亚 – 刚果出血热在新疆地区的流行。

一、生物学和流行病学特征

克里米亚 – 刚果出血热病毒属于布尼亚病毒科**内罗病毒属**(*Nairovirus*)。该病毒的形态、结构、培养特性和抵抗力等与汉坦病毒相似,但抗原性、传播方式、致病性以及部分储存宿主却不相同。

克里米亚 – 刚果出血热是一种自然疫源性疾病。除野生啮齿类动物外,牛、羊、马、骆驼等家畜及野兔、刺猬和狐狸等也是病毒的主要储存宿主。**硬蜱**特别是亚洲璃眼蜱(*Hyalomma asiaticum*)**既是该病毒的传播媒介,也因病毒在蜱体内可经卵传代而成为储存宿主**。该病的传播途径包括虫媒传播、动物源性传播和人 – 人传播。虫媒传播是主要的传播途径,通过带毒硬蜱的叮咬而感染;动物源性传播主要指与带毒动物直接接触或与带毒动物的血液、排泄物接触传播;人 – 人传播主要通过接触患者的血液、呼吸道分泌物、排泄物等引起感染。

克里米亚 – 刚果出血热的发生有明显的地区性和季节性。我国主要见于新疆地区,青海、云南等地亦有自然疫源地。每年 4~5 月为发病高峰期,这与蜱在自然界的消长情况及牧区活动的繁忙季节相一致。

二、致病性与免疫性

人群普遍易感,但患者多为青壮年。本病的潜伏期为 5~7 天,临床表现为高热、剧烈头痛和肌痛等中毒症状;出血现象明显,轻者多为皮肤黏膜的点状出血,重者可有鼻出血、呕血、血尿、便血甚至低血压休克等;患者一般无明显的肾功能损害。本病的致病机制尚不清楚,可能与 HFRS 相似,即病毒的直接损害和通过抗体介导的免疫病理损伤均起作用。

笔记

发病后 1 周左右血清中出现中和抗体，2 周左右达高峰，并可持续多年。病后免疫力持久。

三、微生物学检查法和防治原则

采取急性期患者的血清、血液或尸检样本，或动物、蜱的样本经脑内途径接种小白鼠乳鼠分离病毒，阳性率可达 90% 以上。可采用 RT-PCR 技术检测标本中的病毒核酸，或采用间接免疫荧光试验、ELISA 等检测患者血清中的特异性 IgM 抗体，均可做出早期诊断。

主要预防措施为加强个人防护，防止被硬蜱叮咬，避免与传染源特别是患者的血液或动物血液或脏器等直接接触。我国研制的新疆出血热疫苗（精致乳鼠脑灭活疫苗）已在牧区试用，其免疫预防效果有待进一步考察。

第三节 埃博拉病毒

埃博拉病毒（Ebola virus）可引起高致死性的出血热，其主要临床特征为高热、全身疼痛、广泛性出血、多器官功能障碍和休克。该病主要流行于非洲，自 1976 年以来已在非洲暴发数次大流行，病死率为 50%~90%，是人类迄今为止所发现的致死率最高的病毒之一。

一、生物学特性

埃博拉病毒属于**丝状病毒科**（Filoviridae），其基因组为单股负链 RNA，长约 12.7kb，编码 7 种蛋白。病毒颗粒为多形性的细长丝状，直径为 80nm，长度差异很大，一般约 800nm，最长可达 1400nm。核衣壳螺旋对称，有包膜，包膜上仅含一种糖蛋白。

埃博拉病毒在包浆内增殖，以出芽方式释放。病毒可在多种培养细胞中生长，最常用的是 Vero 细胞、MA-104、SW-13 及人脐静脉内皮细胞等。

埃博拉病毒的抵抗力不强，对紫外线、脂溶剂、β-丙内酯、酚类及次氯酸敏感；60℃、30 分钟可将该病毒灭活，但在室温（20℃）下病毒可稳定地保持其感染性。

二、致病性与免疫性

埃博拉病毒主要在猴群中传播，通过猴传给人，并在人群间传播和流行。病毒通过皮肤黏膜侵入宿主，主要在肝内增殖，亦可在血管内皮细胞、单核-巨噬细胞及肾上腺皮质细胞等增殖，导致血管内皮细胞损伤。组织细胞溶解、器官坏死和严重的病毒血症。单核-巨噬细胞释放 TNF-α 等炎症介质及血管内皮细胞损伤是导致毛细血管通透性增加、皮疹、广泛性出血和低血容量性休克的主要原因。

埃博拉出血热的潜伏期为 2~21 天。临床特征是突发起病，开始表现为高热、头痛、肌痛等，随后病情迅速进展，出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻等，随后可发生出血现象，表现为黏膜出血、呕血、黑便等。患者明显消瘦、虚脱和感觉迟钝。发病后 7~16 天常因休克、多器官功能障碍而死亡。

患者发病 7~10 天后出现特异性 IgM、IgG 抗体，但即使在疾病的恢复期也难检出中和抗体，输入患者恢复期血清也无明显的保护作用，说明疾病的恢复与体液免疫可能关系不大，而可能与细胞免疫有关。

三、微生物学检查法和防治原则

在实验室检查中，必须仔细收集和处理标本，严格安全防御措施。可用组织和血液标本做动物接种或细胞培养以分离病毒；并可用病毒感染的 Vero 细胞或其提取物作抗原，以免疫荧光法和 ELISA 检测血清抗体；还可用 RT-PCR 法检测病毒 RNA。

目前对埃博拉出血热尚无安全有效的疫苗，预防主要采取综合性措施，包括发现可疑患者

笔记

应立即隔离，严格消毒患者接触过的物品及其分泌物、排泄物和血液等，尸体应立即火化。与患者密切接触者应受到监视，出现发热时立即入院隔离。

埃博拉出血热的治疗很困难，目前尚无有效的化学治疗剂和生物制剂，因此主要采取强化支持疗法。

（徐志凯）

笔记

第三十一章 疱疹病毒

疱疹病毒(herpes virus)是一群有包膜的 DNA 病毒,具有相似的生物学特性,归类于**疱疹病毒科**(Herpesviridae)。现已发现 100 多种疱疹病毒,分 α、β、γ 三个亚科,可感染人和多种动物,与人感染相关的疱疹病毒称为人疱疹病毒(human herpes viruses, HHV),目前有 8 种(表 31-1):α 疱疹病毒亚科有单纯疱疹病毒 1 型和 2 型、水痘 - 带状疱疹病毒,均能感染上皮细胞,潜伏于神经细胞;β 疱疹病毒亚科有人巨细胞病毒、人疱疹病毒 6 型和 7 型,可感染并潜伏在多种组织中;γ 疱疹病毒亚科有 EB 病毒和人疱疹病毒 8 型,主要感染和潜伏在淋巴细胞。疱疹病毒科病毒的共同特征如下:

1. 疱疹病毒的主要生物学特性 ①病毒颗粒呈球形,直径为 150~200nm,核衣壳为二十面立体对称,核衣壳周围有一层被膜,最外层是包膜(图 31-1),含有病毒编码的糖蛋白。②病毒基因组为线形 dsDNA,125~245kb,具有独特序列 U_L(Unique long)和 U_S(Unique short),中间和两端有重复序列,故疱疹病毒基因组可发生重组和形成异构体(图 31-2)。③疱疹病毒除编码多种病毒结构蛋白外,还编码多种蛋白(如 DNA 多聚酶、解旋酶、胸苷激酶、转录因子、蛋白激酶),参与病毒复制或涉及核酸代谢、DNA 合成、基因表达、调控等,是抗病毒药物作用的靶位。④病毒在细胞核内复制和装配,通过核膜出芽,由胞吐或细胞溶解方式释放病毒,病毒可通过细胞间桥直接扩散,感染细胞可与邻近未感染的细胞融合,形成多核巨细胞。⑤病毒感染细胞后,可表现为溶细胞性感染,潜伏感染或细胞永生化(EB 病毒)。建立潜伏感染后可持续存在宿主体内,在免疫力低下时激活(如器官移植、艾滋病、肿瘤患者等);有些疱疹病毒可引起先天性感染,如 HCMV 和 HSV 可经胎盘感染胎儿,导致先天畸形;而有些疱疹病毒感染与肿瘤相关,如 EBV 与鼻咽癌,KSHV 与卡波西肉瘤等。⑥病毒感染的控制主要依赖于细胞免疫。

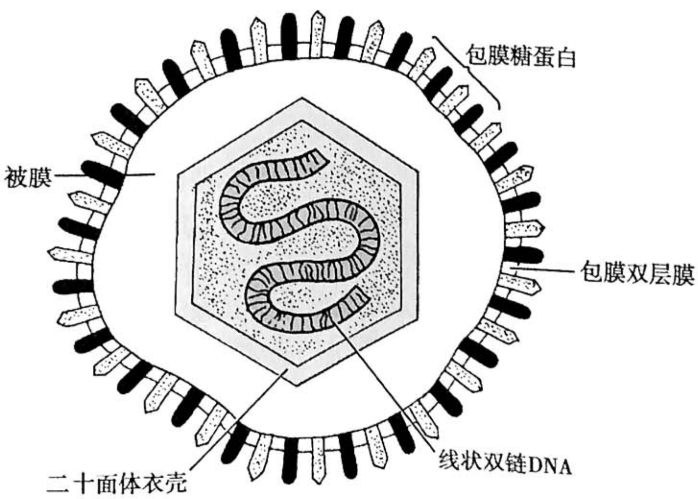


图 31-1 疱疹病毒结构模式图

笔记

笔记

表 31-1　人类疱疹病毒的分类

疱疹病毒亚科 "-herpesviridae"	疱疹病毒属 "-virus"	正式命名 "human herpes virus"	常用名	生物学特性		所致疾病
				复制周期和细胞病变	潜伏部位	
Alpha(α)	*Simplex*	人疱疹病毒 1 型(HHV-1)	单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus type 1,HSV-1)	宿主范围广,复制周期短,溶细胞性感染(cytolytic)	神经元(三叉神经节和颈上神经节)	口咽炎,唇、眼、脑感染
		人疱疹病毒 2 型(HHV-2)	单纯疱疹病毒 2 型(herpes simplex virus type 2,HSV-2)		神经元(骶神经节)	生殖器疱疹
	Varicello	人疱疹病毒 3 型(HHV-3)	水痘带状疱疹病毒(varicella-zoster virus,VZV)		神经元(脊髓后根神经或颅神经感觉神经节)	水痘、带状疱疹
Beta(β)	*Cytomegalo*	人疱疹病毒 5 型(HHV-5)	人巨细胞病毒(human cytomegalovirus,HCMV)	宿主范围窄,复制周期较长,病变细胞肿胀形成巨细胞	腺组织、肾脏、白细胞	单核细胞增多症,眼、肾、脑和先天性感染
	Roseolo	人疱疹病毒 6 型(HHV-6)	人疱疹病毒 6 型(HHV-6)	复制周期长,淋巴增殖	淋巴样组织,唾液腺	婴儿急疹
		人疱疹病毒 7 型(HHV-7)	人疱疹病毒 7 型(HHV-7)		淋巴样组织,唾液腺	未知
Gamma(γ)	*Lymphocrypto*	人疱疹病毒 4 型(HHV-4)	EB 病毒(Epstein-Barr virus,EBV)	生长周期不定,不引起溶细胞性病变淋巴增殖	淋巴样组织,B 淋巴细胞	传染性单核细胞增多症、Burkitt 淋巴瘤、鼻咽癌
	Rhadino	人疱疹病毒 8 型(HHV-8)	卡波西肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)		B 淋巴细胞,唾液腺?前列腺?	卡波西肉瘤

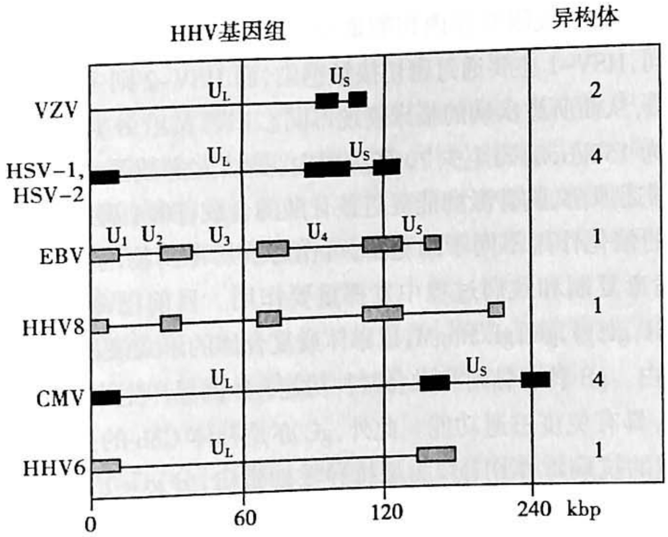


图 31-2 疱疹病毒基因组

(引自 Murray PR, et al. Medical Microbiology. 5th ed. St Louis: Mosby, 2005)

框为重复序列;黑色:倒置重复;灰色:顺向重复;U_L:长独特序列;U_S:短独特序列;HSV 和 HCMV 有两组倒置序列,可形成 4 种异构体;VZV 有一组倒置重复,可形成 2 种异构体;EBV、HHV-8 和 HHV-6 仅有顺向重复,故无异构体

2. 疱疹病毒的复制 病毒与细胞表面受体相互作用,病毒包膜与细胞膜融合,核衣壳与核膜相连,病毒基因组释放至核内,开始转录和翻译。疱疹病毒基因组调控病毒基因转录和蛋白质的合成过程,根据转录翻译的先后顺序将病毒蛋白分为即刻早期蛋白(α 蛋白)、早期蛋白(β 蛋白)和晚期蛋白(γ 蛋白):①**即刻早期蛋白**(immediate early protein)为 DNA 结合蛋白,可反式激活和调节 β 基因和 γ 基因的表达,促进早期蛋白和晚期蛋白的合成;②**早期蛋白**(early protein),主要是转录因子和聚合酶等,参与病毒 DNA 复制、转录和蛋白质合成,也是 γ 基因的反式激活因子,可抑制细胞的大分子生物合成;③**晚期蛋白**(late protein),主要是结构蛋白(已知有 35 种之多,包括 7 种核衣壳蛋白和 10 多种包膜糖蛋白),在病毒基因组复制后产生,对即刻早期蛋白和早期蛋白有反馈抑制作用。DNA 复制和装配在细胞核内进行,核衣壳通过核膜或高尔基体获得包膜。在增殖性感染期,病毒产生的即刻早期蛋白具有抑制细胞 DNA 修复酶功能,使病毒基因组维持线性,进行 DNA 复制和转录,产生感染性病毒颗粒;而在潜伏感染时,细胞 DNA 修复酶将病毒线性 DNA 环化,环化的 DNA 基因组潜伏在细胞内,仅能产生潜伏相关转录体(latency-associated transcripts, LAT),但不能翻译蛋白。

第一节 单纯疱疹病毒

一、生物学性状

单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)在人群中分布广泛,感染率高。HSV 具有较宽的宿主范围,能在多种细胞中增殖(人胚肺、人胚肾、地鼠肾等细胞),病毒复制迅速(8~16 小时 / 周期),致细胞病变快。可感染人及多种动物包括兔、豚鼠和小鼠等实验动物。HSV 可致多种疾病,如龈口炎、角膜结膜炎、脑炎、生殖道感染和新生儿感染等。HSV 可在神经元细胞建立潜伏感染,复发常见。

HSV 有两种血清型,即 HSV-1(HHV-1)和 HSV-2(HHV-2),基因组结构相似,具有约 50%

笔记

的同源性，但通过序列分析或限制性内切酶谱分析可区分，具有型特异性抗原。两种血清型 HSV 的传播途径不同，HSV-1 主要通过密切接触感染，而 HSV-2 则主要通过性接触传播或新生儿经母体生殖道感染，从而所致疾病的临床表现不同。

HSV 基因组约为 150kb，编码至少 70 多种蛋白，虽然大多数蛋白的功能尚不清楚，但已知其编码的核糖核苷酸还原酶、胸苷激酶能促进核苷酸的合成；DNA 聚合酶则能催化病毒 DNA 复制。因病毒编码酶的催化作用不同于细胞酶，可作为抗病毒药物的靶位。HSV 病毒至少有 11 种包膜糖蛋白，在病毒复制和致病过程中发挥重要作用。目前已命名的 HSV 包膜糖蛋白有：gB、gC、gD，gE，gG，gH，gI，gJ，gK，gL 和 gM，以单体或复合体的形式发挥作用。其中 gB、gC、gD 和 gH 均为黏附性糖蛋白。gB 具有黏附和融合两种功能，gD 诱导产生中和抗体的能力最强，gC、gE 和 gI 为结构糖蛋白，具有免疫逃避功能。此外，gC 亦是补体 C3b 的受体，gE/gI 复合物是 IgGFc 的受体，能阻止抗体的抗病毒作用；gG 为型特异性糖蛋白，分 gG-1 和 gG-2，以区分 HSV-1 和 HSV-2 血清型。

二、致病性与免疫性

人群中 HSV 感染常见，密切接触和性接触是主要传播途径，病毒经黏膜和破损皮肤进入人体。HSV 在多数细胞中表现为溶细胞感染，致细胞病变快，表现为细胞肿胀、变圆（气球样变），出现嗜酸性核内包涵体和细胞融合。细胞融合是 HSV 在细胞与细胞间扩散的有效方式，即使中和抗体存在的情况下 HSV 仍可播散。HSV 感染的典型皮肤损伤为水疱，浆液中充满感染性病毒颗粒，在水疱基底部有典型的多核巨细胞。HSV 感染神经细胞主要呈潜伏感染状态。

（一）感染类型

1. 原发感染（primary infection） 主要临床表现为黏膜与皮肤的局部疱疹，潜伏期 2~12 天（平均 3~5 天），病程持续 2~3 周。一般情况下，HSV 原发感染较轻，仅 10%~15% 表现为显性感染，全身感染少见，在免疫缺损的患者中才会侵犯多器官。HSV-1 以腰以上部位感染为主，往往限于口咽部，病毒经飞沫或直接接触唾液传播；HSV-2 则以腰以下及生殖器感染为主，经生殖道传播。

2. 潜伏感染（latent infection） 原发感染后，HSV 在感染部分复制，如机体不能彻底清除病毒，病毒由感觉轴突神经（retrograde axonal flow）传递到感觉神经节，以非复制的状态潜伏在神经细胞中，持续终生。HSV-1 潜伏于三叉神经节和颈上神经节；HSV-2 潜伏于骶神经节。在潜伏期，原发感染灶附近检测不到病毒。潜伏的 HSV 并不复制，故对抗病毒药物不敏感。

3. 复发性感染 当机体受非特异性刺激，如发热、寒冷、日晒、月经期、情绪紧张，或其他细菌、病毒感染，或短暂抑制细胞免疫时，潜伏病毒被激活，沿感觉神经纤维轴索下行到末梢，在其支配的上皮细胞中复制，引起复发性局部疱疹。可表现为反复发作，复发频率因人而异。由于机体的免疫应答，复发性感染病程短，组织损伤轻，且感染更为局限化，8~10 天后痊愈。复发期病毒排出，具有传染性。

（二）所致疾病

1. 与 HSV-1 感染有关的主要疾病

（1）龈口炎：属儿童原发感染，以发热、口腔内水疱性损伤为主。多数儿童为无症状的原发感染。

（2）唇疱疹：多为复发性感染，常见于口唇、鼻腔黏膜皮肤交界处的成群水疱。

（3）疱疹性角膜结膜炎：以角膜溃疡为主，常伴有结膜上皮细胞损伤，严重复发可导致瘢痕和失明。

（4）脑炎：原发和复发性感染均可引起脑炎。可出现神经系统后遗症，病死率较高。

2. 与 HSV-2 感染有关的主要疾病

笔记

（1）生殖系统疱疹：男女生殖道出现疼痛性水疱损伤，原发感染所致的损伤比复发感染更为

严重和持久，可伴有发热和腹股沟淋巴结肿，病毒排出可持续3周；复发性生殖疱疹症状较轻，病毒排出持续数天。

（2）新生儿疱疹：感染途径包括宫内、产道和产后接触感染，其中以产道感染为常见（75%）。如孕妇患有急性期生殖器疱疹，新生儿可经产道感染，引起皮肤、眼和口局部疱疹，重症患儿表现为疱疹性脑膜炎或全身播散性感染。新生儿疱疹病毒全身感染的预后差，病死率达80%，存活者往往伴有永久性神经损伤。孕妇原发感染或潜伏病毒激活，病毒可经胎盘感染胎儿，诱发流产、早产、死胎或先天性畸形。

3. 免疫缺损患者的复发感染 免疫力低下的患者（移植、血液病或艾滋病患者等）易发生严重疱疹病毒感染（复发性疱疹），好发于呼吸道、食管、肠道黏膜等部位。

（三）免疫性

在HSV原发和复发性感染中，干扰素、NK细胞、迟发型超敏反应和CTL发挥主要作用，控制和清除病毒感染。抗病毒表面糖蛋白的中和抗体可阻断病毒感染易感细胞，但抗体应答与疱疹病毒的复发频率无关，不能阻止潜伏病毒的激活，但可改变病程。由于病毒糖蛋白gC和gE/gI复合物分别与补体C3和抗体Fc段结合，可降低体液免疫的抗病毒作用。

三、微生物学检查法

1. 细胞学诊断 刮取宫颈黏膜、皮肤、口腔、角膜等疱疹病损组织的基底部材料作涂片，用荧光素或酶标记抗体染色，检查细胞内HSV抗原；标本亦可用Wright-Giemsa染色镜检，寻找细胞核内包涵体及多核巨细胞均有益于病毒感染的诊断。

2. 核酸检测 应用PCR或原位杂交技术检测标本中HSV-DNA，方法快速、敏感而特异；尤其是脑脊液标本的HSV PCR检测被认为是诊断疱疹性脑炎的标准方法。

3. 分离培养 采取水疱液、唾液、角膜拭子、阴道拭子或脑脊液等标本，常规处理后接种于人胚肾、兔肾等易感细胞进行分离病毒。HSV引起的细胞病变常在感染后2~3天出现，细胞病变表现为细胞肿胀、变圆、折光性增强和形成多核巨细胞等，据此可初步判定。然后再采用中和试验DNA酶切电泳等方法进行鉴定。

4. 血清学检查 常用ELISA和间接免疫荧光法检测HSV抗体。特异性IgM抗体阳性提示近期感染；特异性IgG抗体的检测常用于流行病学调查。

四、防治原则

目前对HSV感染尚无特异性预防措施。新生儿和湿疹患者应避免接触活动期HSV感染者。注意安全性生活，以减少HSV传播的危险。抗病毒药阿昔洛韦（acyclovir，ACV）、更昔洛韦（ganciclovir，GCV）等已用于生殖器疱疹、疱疹性脑炎及复发性疱疹病毒感染和疱疹性角膜炎的治疗，疗效较好，但均不能清除潜伏状态的病毒或防止潜伏感染的复发。

目前尚无HSV疫苗，HSV糖蛋白亚单位疫苗正在研制中。

第二节 水痘－带状疱疹病毒

一、生物学性状

水痘－带状疱疹病毒（varicella-zoster virus，VZV，HHV-3）是引起水痘和带状疱疹的病原体。在儿童原发感染时，引发水痘，病愈后潜伏在体内，潜伏病毒激活后引起带状疱疹。

VZV只有一个血清型，无动物贮存宿主。其主要特性包括：①基因组长度约为120~130kb；编码约70种蛋白；②能在胚胎组织细胞中增殖，形成嗜酸性包涵体和多核巨细胞，但CPE出现

笔记

缓慢；③病毒编码胸苷激酶，故对抗病毒药物敏感；④潜伏于脊髓后根神经细胞，可引起复发性感染；细胞免疫能限制和防止重症水痘的发生；⑤皮肤损伤以水疱为特征；但其原发性感染的播散途径不同于 HSV，由呼吸道传播，经病毒血症播散至皮肤。

二、致病性与免疫性

人类是 VZV 的唯一宿主，皮肤是其主要靶组织。儿童易感，感染发病率可达 90%。VZV 传染性强，水痘患者急性期上呼吸道分泌物及水痘或带状疱疹患者水疱中均含有高滴度的感染性病毒颗粒，通过飞沫或直接接触传播。带状疱疹患者也是儿童水痘的传染源。

（一）感染类型

1. 原发感染 主要表现为水痘。病毒感染起始于呼吸道黏膜，在局部淋巴结中增殖后，而后入血和淋巴系统，进入肝和脾中复制，11~13 天后，引起第二次病毒血症，播散至全身的皮肤，约经 2~3 周潜伏期后皮肤出现斑丘疹、水疱疹，并可发展为脓疱疹。皮疹向心性分布，以躯干较多，常伴有发热等症状。数天后结痂，无继发感染者痂脱落不留痕迹。

儿童水痘一般为自限性，症状较轻。成人水痘一般病情较重，20%~30% 并发病毒性肺炎，病死率较高。孕妇患水痘临床症状严重，并可致胎儿畸形，流产或死胎，新生儿水痘呈播散性，病死率高，水痘性脑炎可致永久性后遗症。如患者细胞免疫缺陷，则易得重症水痘，并发肺炎、脑炎等致死性疾病。

2. 复发性感染 原发感染后，VZV 潜伏于脊髓后根神经节或脑神经的感觉神经节中。成年以后，或细胞免疫低下时，潜伏的 VZV 被激活，沿感觉神经轴突到达其所支配的皮肤细胞，在细胞内增殖引起疱疹，因疱疹沿感觉神经支配的皮肤分布，串联成带状，称为带状疱疹，疼痛剧烈。带状疱疹一般多见于胸、腹或头颈部，约 10%~15% 发生于三叉神经眼支所支配的部位。

（二）免疫性

特异性抗体能限制 VZV 经血流播散，但不能阻止带状疱疹的发生。细胞免疫不仅限制疾病的发展，且在感染的恢复中发挥重要作用。干扰素也在抗 VZV 中发挥作用。与其他疱疹病毒相似，VZV 编码有助于免疫逃逸的产物，如下调 MHC Ⅰ类分子和Ⅱ类分子的表达等以实现免疫逃逸。

三、微生物学检查法与防治原则

微生物学检查

根据临床表现一般即可做出 VZV 感染的诊断。必要时取疱疹基底部标本、皮肤刮取物、水疱液、活检组织等做 HE 染色，检查核内嗜酸性包涵体和多核巨细胞等；或用直接荧光抗体法检测 VZV 抗原；或用 ELISA、间接免疫荧光和微量中和试验等检测特异性 IgM 抗体。原位杂交或 PCR 也可用于组织或体液中 VZV 核酸的检测。一般不依赖病毒的分离培养，可选用人二倍体成纤维细胞进行病毒的分离培养，但带状疱疹形成 5 天以上者病毒分离率很低。

VZV 减毒活疫苗已用于特异性预防，接种人群为 1 岁以上健康的易感儿童。在接触传染源 72~96 小时内，带状疱疹高效价免疫球蛋白（VZVIg）对预防感染或减轻临床症状有一定效果，对免疫功能低下的儿童尤为必要。VZVIg 无治疗和预防复发（带状疱疹）的作用。

正常儿童一般不需采用抗病毒治疗，抗病毒药物主要用于治疗免疫抑制患儿的水痘，成人水痘和带状疱疹。对 VZV 有效的抗病毒药物包括阿糖腺苷、阿昔洛韦和干扰素等。大剂量 IFN 能限制疾病的发展和缓解局部症状。

笔记

第三节　人巨细胞病毒

一、生物学性状

人巨细胞病毒（human cytomegalovirus，HCMV，HHV-5）暂定为一个血清型，但病毒株之间抗原性有一定差异。根据 AD169 株、Davis 株和 Kerr 株等抗原性的不同，可分为 3~4 个亚型。HCMV 感染的宿主范围较窄，人类是其唯一宿主，可导致人类疾病，是引起先天性畸形的最常见病原。目前尚无 HCMV 感染动物模型。



图 31-3　人巨细胞病毒感染人胚成纤维细胞（×400）

箭头所指为核内包涵体

HCMV 形态结构与 HSV 相似，病毒颗粒直径约 180~250nm。基因组 240kb，编码蛋白 > 200 个，其包膜蛋白具有 Fc 受体的功能。HCMV 在体外仅在成纤维细胞中增殖，在上皮细胞和淋巴细胞中则呈低水平增殖。病毒增殖较缓慢，复制周期较长，出现细胞病变需 2~6 周，表现为细胞肿胀，核增大，形成巨核细胞。在病毒培养物中，游离病毒较少，病毒主要通过细胞 - 细胞间扩散。在患者标本中可见核内和细胞质嗜酸性包涵体，特别是核内可出现周围绕有一轮晕的大型包涵体（图 31-3）。HCMV 对脂溶剂敏感，热（56℃ 30 分钟）、酸、紫外线照射均可灭活病毒。毒种保存条件要求高，4℃只能保存数日，-190℃和真空冷冻干燥可长期保存。

二、致病性与免疫性

HCMV 在人群中的感染极为普遍，我国成人 HCMV 抗体阳性率达 60%~90%。原发感染发生在 2 岁以下，通常为隐性感染，仅少数人有临床表现。在机体免疫功能低下时易发生显性感染。感染后，多数人可长期带毒。病毒潜伏部位主要是：唾液腺、乳腺、肾脏、外周血单核细胞和淋巴细胞。潜伏病毒被激活可导致复发感染。在妊娠期间，潜伏的 HCMV 可被激活而从宫颈排出病毒。

HCMV 的传染源为患者及隐性感染者。病毒可长期或间歇从感染者的尿液、唾液、泪液、乳汁、精液、宫颈及阴道分泌物排出。病毒可通过垂直或水平方式传播：①母婴传播，病毒可通过胎盘至胎儿（先天性感染），或产道和（或）乳液至新生儿（围生期感染）；②接触传播，通过人 - 人密切接触，经口 - 口或手 - 口等途径传播（接触带病毒分泌物/物品），在幼儿园里常见；③性传播，通过性接触传播；④医源性传播，包括输血和器官移植等。接触病毒后，潜伏期 4~8 周。

（一）感染类型

1. 先天性感染（congenital infection）　孕期 3 个月内感染，病毒可通过胎盘引起胎儿原发感染，出现死胎或先天性疾病。先天性感染率为 0.5%~2.5%，其中 5%~10% 的新生儿出现临床症状，称为巨细胞包涵体病（cytomegalic inclusion disease，CID），有肝脾肿大、黄疸、血小板减少性紫癜、溶血性贫血及神经系统损伤。少数呈先天性畸形，如小头畸形和智力低下等，严重者可致流产和死胎，也有部分（10%）的亚临床感染病儿在出生后数月至数年才出现智力低下和先天性耳

笔记

聋等。

2. 围生期感染(perinatal infection) 分娩时新生儿可经产道、母乳或护理人员(排出病毒者)感染 HCMV。一般多无明显临床症状,尿液和咽分泌物中大量排出病毒,少数表现为短暂的间质性肺炎、肝脾轻度肿大、黄疸。多数患儿预后良好。

3. 儿童和成人原发感染 通常呈隐性感染,感染后多数可长期带毒,表现为潜伏感染,并长期或间歇地排出病毒。少数感染者出现临床症状,表现为巨细胞病毒单核细胞增多症,出现疲劳、肌痛、发热、肝功能异常和单核细胞增多等症状,但异嗜性抗体阴性。临床症状较轻微、且并发症少见。

4. 免疫功能低下者感染 在免疫功能低下者(器官移植、艾滋病、白血病和淋巴瘤或长期使用免疫抑制剂者等)中,HCMV 原发感染或潜伏病毒的激活均可引起严重疾病,如 HCMV 肺炎、肝炎和脑膜炎等。HCMV 是导致艾滋病患者最常见机会感染的病原体之一,常导致视网膜炎。HCMV 感染也可抑制机体的免疫功能。

(二) 免疫性

HCMV 感染可诱导机体产生特异性 IgG、IgM 和 IgA 抗体,母体抗体可减轻新生儿感染症状,但不能完全阻断母婴传播和围生期感染,也不能阻止潜伏病毒的激活。一般认为,NK 细胞和细胞免疫在限制病毒播散、潜伏病毒激活和限制病毒感染的发生和发展中发挥重要作用。

三、微生物学检查法与防治原则

1. 细胞学检查 收集咽喉洗液、尿液等标本,经离心后取沉渣涂片,吉姆萨染色镜检,观察巨大细胞及包涵体。该方法简便,可用于辅助诊断,但阳性率不高。

2. 病毒分离 常用标本是中段晨尿、血液、咽部和宫颈分泌物,接种于人胚肺成纤维细胞,培养 4~6 周后观察细胞病变,也可在玻片短期培养 2~4 天后,用免疫荧光或免疫酶联技术检测病毒早期抗原(如 pp65 蛋白)。

3. 血清学检查 应用 ELISA 检测 HCMV-IgM,可以帮助诊断 HCMV 的近期感染,若从新生儿血清中查出 HCMV-IgM,表示宫内感染。IgG 检测可了解人群感染率,急性期和恢复期双份血清检测可用于临床诊断。

4. 核酸检测 荧光定量 PCR 检测标本中病毒 DNA 拷贝数或用 RT-PCR 法检测病毒 mRNA,可用于快速诊断。

目前尚无安全有效的 HCMV 疫苗,可用高滴度抗 HCMV 免疫球蛋白及抗病毒药物更昔洛韦等联合应用治疗严重 HCMV 感染。

第四节 EB 病 毒

1964 年,Epstein 和 Bar 等用改良组织培养技术自非洲儿童恶性淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)细胞培养物中发现了一种新型人疱疹病毒,其电镜下形态结构与其他疱疹病毒相似,但抗原性不同,且具有嗜 B 淋巴细胞的特性,随后将其命名为**EB 病毒**(Epstein-Barr virus,EBV)。在 EBV 原发感染中,约有半数患者表现为传染性单核细胞增多症。非洲儿童恶性淋巴瘤和鼻咽癌易发生于感染过 EBV 的患者,故认为 EBV 是一种人类重要的肿瘤相关病毒。

用 EBV 感染人 B 淋巴细胞,可建立永久化的细胞系,但只有少数永生化的细胞产生病毒颗粒。

一、生物学性状

笔记

EBV 形态与结构与其他疱疹病毒相似,完整的病毒颗粒为圆形,直径为 180nm,核衣壳呈

二十面体对称，通过核膜出芽获得包膜，包膜表面有糖蛋白刺突。EBV 基因组为线性 dsDNA，172 kbp，至少编码 100 多种病毒蛋白。

EBV 感染可表现为**增殖性感染**(lytic cycle)和潜伏性感染。在呈潜伏状态时，EBV 基因组以游离环状**附加子**(episome)的形式存在于感染的细胞核内。增殖性感染时，环状基因组需先线性化后，病毒开始复制，子代病毒颗粒以出芽的方式释放。

B 淋巴细胞是 EBV 的主要靶细胞。在感染初始，EBV 膜蛋白 gp350/gp220 与 B 淋巴细胞表面的 C3d 补体受体分子(CD21 或 CR2)结合，启动病毒进入细胞的过程，gHgL 和 gB 介导病毒－细胞融合。EBV 进入 B 淋巴细胞后，可直接进入潜伏状态，其特征为：病毒持续存在、有限的病毒蛋白表达、具有被激活进入复制周期的潜能。在人体内，EBV 可感染口咽部、腮腺和宫颈上皮细胞(EBV 感染 B 细胞过程的分子机制不同于上皮细胞，后者的过程更为复杂)。

病毒在不同感染状态，表达的抗原不同，具有临床诊断意义。

1. 增殖性感染期表达的抗原

(1) **EBV 早期抗原**(early antigen，EA)：是病毒的非结构蛋白，具有 DNA 聚合酶活性，EA 表达是 EBV 增殖活跃的标志，感染病毒进入增殖周期。EA 分两种：EA-R(restricted)局限于细胞质，EA-D(diffuse)弥散至细胞质和核。EA 抗体出现于感染的早期。非洲儿童恶性淋巴瘤患者抗 EA-R 抗体阳性，鼻咽癌患者抗 EA-D 抗体阳性。

(2) EBV 晚期抗原：是病毒的结构蛋白，包括衣壳蛋白和包膜蛋白，在病毒增殖周期时大量表达。在感染细胞中，EBV **衣壳蛋白**(viral capsid antigen，VCA)存在于细胞质和细胞核内。VCA-IgM 出现早，消失快；VCA-IgG 出现晚，持续时间长。**EBV 膜抗原**(membrane antigen，MA)存在于病毒包膜的感染细胞的表面。gp350/gp220 可诱导中和抗体，gp350 特异性 CTL 在控制 EBV 感染中发挥重要作用。MA-IgM 用做早期诊断，MA-IgG 可持续存在。

2. 潜伏感染期表达的抗原

(1) **EBV 核抗原**(EB nuclear antigen，EBNA)：存在于感染的 B 淋巴细胞核内，为 DNA 结合蛋白，有 6 种。其中 EBNA-1 是在 EBV 各种潜伏状态下均表达的唯一病毒蛋白，其主要作用是稳定病毒环状附加体，以维持病毒基因组在感染细胞增殖的过程中不丢失；EBNA-1 还具有抑制细胞处理和提呈抗原的功能，可使感染细胞逃避细胞毒 T 细胞的杀伤作用。EBNA-2 在细胞永生化过程中发挥关键作用。EBNA 抗体出现在感染的晚期。

(2) **潜伏膜蛋白**(latent membrane protein，LMP)：存在于 B 淋巴细胞膜表面，包括 LPM-1、LPM-2 和 LPM-3。LPM-1 类似活化的生长因子受体，是一种致癌蛋白，具有与抑癌蛋白即肿瘤坏死因子受体相关因子(tumor necrosis factor receptor-associated factor，TRAF)相互作用、抑制细胞凋亡，引起 B 淋巴细胞转化等活性。LPM-1 在鼻咽癌等上皮细胞源性肿瘤的形成中起重要作用。LPM-2 具有阻止潜伏病毒激活的功能。

二、致病性与免疫性

(一) 致病机制

EBV 在人群中感染非常普遍，我国 3 岁左右儿童 EBV 抗体阳性率高达 90% 以上。患儿初次感染多无明显症状，少数出现咽炎和上呼吸道感染，病毒潜伏于体内，终生带毒(图 31-4)。

EBV 传染源为患者和隐性感染者。EBV 主要经唾液传播，也可经性接触传播。EBV 感染后，在口咽部或腮腺上皮细胞增殖，释放的病毒感染局部淋巴组织中的 B 淋巴细胞，B 淋巴细胞入血导致全身性 EBV 感染。在正常个体中，大多数感染的细胞被清除，只有少量 EBV 潜伏感染的 B 淋巴细胞持续存在($1/10^6$ B 淋巴细胞)。

EBV 是 B 淋巴细胞有丝分裂原，可激活多克隆 B 淋巴细胞，产生异嗜性抗体。被感染的 B 淋巴细胞能刺激 T 细胞增殖，形成非典型淋巴细胞，主要是细胞毒 T 细胞和 NK 细胞，使外周血

笔记

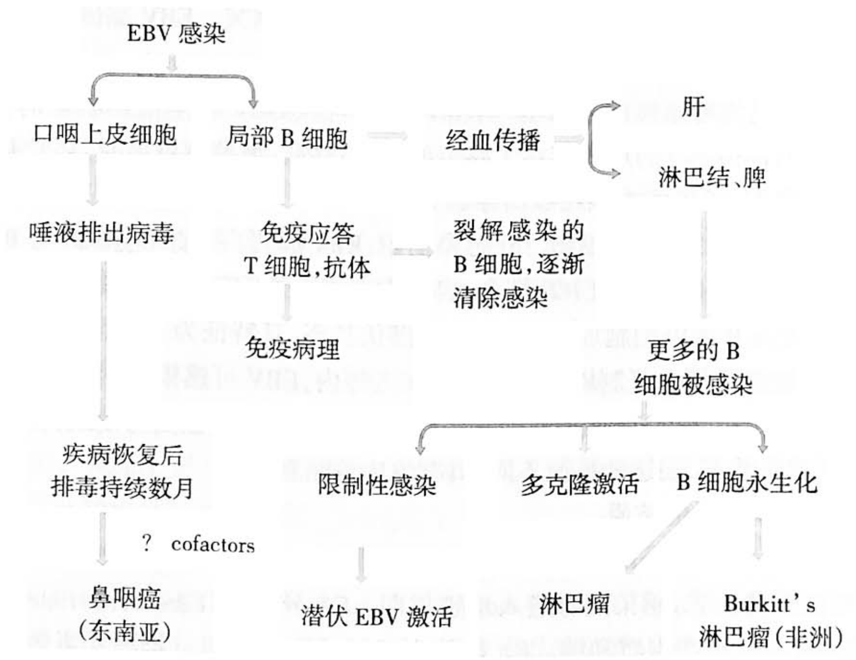


图 31-4 EBV 感染及其致病机制

单核细胞明显增高。非典型淋巴细胞亦具有细胞毒作用，杀伤 EBV 感染的细胞。

EBV 基因表达的 IL-10 类似物（BCRF-1）能抑制 Th1 细胞，阻止 IFN-γ 的释放和 T 细胞对病毒的免疫应答，但能促进 B 淋巴细胞生长。B 淋巴细胞的连续增殖与其他协同因子共同作用下，可诱发淋巴瘤。另外，在免疫抑制者中，EBV 感染与肿瘤发生相关。

（二）所致疾病

1. 传染性单核细胞增多症（infectious mononucleosis） 是一种急性全身淋巴细胞增生性疾病，见于青春期初次感染大量 EBV。潜伏期约为 40 天，典型的临床表现为发热、咽炎、颈淋巴结炎、肝脾肿大、血单核细胞和异形淋巴细胞增多。病程可持续数周，预后较好。如果没有并发症，病死率很低。急性患者口腔黏膜的上皮细胞内出现大量病毒，由唾液排出病毒可持续 6 个月之久。严重免疫缺陷的儿童、艾滋病及器官移植者病死率较高。

2. 非洲儿童恶性淋巴瘤（Burkitt's lymphoma） 是一种低分化的单克隆 B 淋巴细胞瘤，在中非、新几内亚、南美洲等某些温热带地区呈地方性流行。多见于 6 岁左右儿童，好发部位为颜面、腭部。流行病学调查显示，在 Burkitt 淋巴瘤发生前，患者 EBV 抗体均为阳性，80% 患者的抗体效价高于正常人，且在肿瘤组织中发现 EBV 基因组，故认为 EBV 与非洲儿童恶性淋巴瘤密切相关。

3. EBV 与鼻咽癌 鼻咽癌主要发生在东南亚、北非和北美洲北部地区。我国广东、广西、福建、湖南、江西、浙江和台湾等省（区）为高发区。多发生在 40 岁以上人群。EBV 感染与鼻咽癌发生相关的主要依据：①所有鼻咽癌组织中均可找到 EBV 的核酸和抗原（EBNA 和 LMP）；②鼻咽癌患者血清中的 EBV 抗体效价（VCA、EA、MA、EBNA 的 IgG 及 IgM）高于正常人，有些患者 EBV 抗体的升高出现在肿瘤发生之前；③鼻咽癌经治疗病情好转后，抗体效价亦逐渐下降。然而，EBV 不是致鼻咽癌的唯一因子。

4. 淋巴组织增生性疾病 在免疫缺损患者中，易发生 EBV 诱发的淋巴组织增生性疾病。1%~10% 的移植患者会发生淋巴组织增生性疾病，如恶性单克隆 B 淋巴细胞瘤。艾滋病患者常会发生 EBV 相关淋巴瘤、舌毛状白斑症（oral hairy leukoplakia）。约 50% 的霍奇金淋巴瘤患者 EBV DNA 检测阳性。

（三）免疫性

笔记

EBV 原发感染后，机体产生特异性中和抗体和细胞免疫应答。首先出现 EBV 衣壳蛋白和

包膜糖蛋白抗体，即 VCA 抗体和 MA 抗体，其后出现 EA 抗体。随着感染的细胞溶解和疾病的恢复，才能产生 EBNA 抗体。中和抗体可防止外源性 EBV 再感染，但不能完全清除细胞内潜伏的 EBV。细胞免疫在限制原发感染和慢性感染中发挥重要作用。在体内潜伏的病毒与宿主保持相对平衡状态，EBV 可在口咽部继续低滴度的增殖性感染，持续终生。

三、微生物学检查法

EBV 分离培养较为困难，一般常用血清学方法作辅助诊断，多用免疫酶染色法或免疫荧光法检测抗体。

1. 血清学诊断

（1）异嗜性抗体的检测：异嗜性抗体（heterophile antibody）是 EBV 感染后非特异性活化 B 淋巴细胞产生的抗体，主要用于传染性单核细胞增多症的辅助诊断。在发病早期，血清中出现能非特异凝集绵羊红细胞的 IgM 型抗体，效价在发病 3~4 周内达高峰，恢复期逐渐下降消失。抗体效价≥ 1:224 有诊断意义。

（2）EBV 抗体检测：用免疫荧光法或免疫酶法检测 EBV 抗体有助于 EBV 感染的诊断。VCA-IgM 的存在提示 EBV 原发性感染。VCA-IgG 出现早于 EBNA-IgG 抗体，因均能持久存在，故 VCA-IgG 抗体或 EBNA-IgG 抗体阳性均表示以往感染。EA-IgA 和 VCA-IgA 效价持续升高，对鼻咽癌有辅助诊断意义。

2. EBV 核酸及抗原检测 用原位核酸杂交试验或 PCR 法检查标本中的 EBV DNA，以证明是否存在 EBV 感染。也可用免疫荧光法检测细胞中的 EBV 抗原。

3. 病毒的分离培养 唾液、咽漱液、外周血细胞和肿瘤组织等标本接种至新鲜的人 B 淋巴细胞或脐血淋巴细胞培养中，4 周后可通过荧光抗体染色技术检测 EBV 抗原，以作病毒鉴定。

四、防 治 原 则

95% 的传染性单核细胞增多症患者均可恢复，仅有少数传染性单核细胞增多症患者可发生脾破裂，故在急性期应避免剧烈运动。EBV 在鼻咽癌发生中起重要作用，测定 EBV 抗体可以早期诊断鼻咽癌，以利早期治疗。

预防 EBV 感染的疫苗正在研制中。近年来对纯化 EBV 多肽取得了进展，可用 MA、LMP 等多肽疫苗免疫，有可能借助抗体或细胞免疫以阻断 EBV 的原发感染。

第五节 新型人疱疹病毒

一、人疱疹病毒 6 型

人疱疹病毒 6 型（human herpes virus 6，HHV-6）是 1986 年分离出的嗜淋巴细胞的新型疱疹病毒，基因组为 160~170kb，基因组结构与 HCMV 相似，属于 β 疱疹病毒亚科。根据其抗原性的不同分为 HHV-6A 和 HHV-6B；两者的抗原性仅与 HHV-7 有少量交叉，而与其他疱疹病毒无交叉反应。HHV-6 可在 $CD4^{+}T$ 细胞中增殖，其他细胞如 B 淋巴细胞、神经胶质细胞、成纤维细胞和巨核细胞也支持 HHV-6 复制。人细胞的 CD46 是病毒的受体。

HHV-6 在人群中的感染十分普遍，约 90% 的 1 岁以上人群感染过 HHV-6。HHV-6 感染持续终生，大多数成人唾液中含有病毒，经口腔分泌物唾液传播。HHV-6B 原发感染后，多数婴儿表现为隐性感染，少数婴幼儿感染可引起丘疹或玫瑰疹，伴发热，称为**婴儿玫瑰疹**（roseola infantum）。一般潜伏期为 4~7 天，突然出现高热及上呼吸道症状，持续 4 天左右，热退后在颈部和躯干出现淡红色斑丘疹，维持 24~48 小时。一般预后良好，偶见脑炎、肺炎、肝炎和惊厥等。

笔记

在免疫功能低下(器官移植或妊娠妇女)患者中,HHV-6可被激活,引起急性感染。HHV-6是器官移植者感染最重要的病原之一,与移植物的排斥反应、中枢神经系统异常以及病死率增加有关。细胞免疫能限制疾病的发展,促进机体的恢复。

HHV-6感染的实验室诊断,可采集患儿唾液或外周血单核细胞进行病毒分离,但时间较长,需10~30天。采用间接免疫荧光法检测IgM有助于近期感染的诊断,也可用PCR技术检测标本中的HHV-6核酸。

目前尚无HHV-6的预防疫苗。

二、人疱疹病毒7型

人疱疹病毒7型(human herpes virus 7,HHV-7)是由Frenkel等于1990年分离到的嗜$CD4^+$ T细胞的新型疱疹病毒。HHV-7的形态结构与HHV-6相似,但其基因组与HHV-6只有50%~60%的同源性。HHV-7仅在PHA刺激的人脐血淋巴细胞和HupT1细胞株中增殖。血清流行病学调查表明,HHV-7是一种普遍存在的人类疱疹病毒,成人HHV-7抗体阳性率高达90%以上,2~4岁儿童的抗体阳性率达到50%。感染后,HHV-7主要潜伏在人外周血单核细胞和唾液腺。主要传播途径由唾液介导。

HHV-7原发感染与疾病的关系尚待证实,可能与幼儿玫瑰疹、神经损伤和器官移植并发症有关。HHV-7的分离培养与HHV-6相似,可用PCR等分子生物学方法鉴定病毒。目前尚无有效的预防和治疗措施。

三、人疱疹病毒8型

人疱疹病毒8型(human herpes virus 8,HHV-8)由Yuan Chang等于1994年自艾滋病患者的卡波齐肉瘤(Kaposi's sarcoma,KS)活检组织中发现,故又名为**卡波西肉瘤相关疱疹病毒**(Kaposi's sarcoma associated herpesvirus,KSHV)。HHV-8基因组约165kbp,呈线性,在细胞中以附加体形式存在。HHV-8基因组除编码病毒结构蛋白和代谢相关蛋白质外,还编码一些与细胞因子和细胞因子受体的同源物如cyclin D、IL-6、Bcl-2、G偶联蛋白受体(G protein-coupled receptor)以及干扰素调节因子等,与病毒致病、致癌机制有关。

HHV-8的传播途径尚不清楚,在美国和北欧的艾滋病患者中,性接触可能是HHV-8重要的传播方式。此外,HHV-8也可经唾液、器官移植或输血传播。黏膜是该病毒的侵入门户。

1%~4%的正常人感染过HHV-8,感染持续终生。健康人感染该病毒后无症状但可向外排毒,而在免疫缺损的患者中(艾滋病、器官移植、免疫抑制剂使用等)易发生显性感染。HHV-8感染后,潜伏在B淋巴细胞中,当宿主出现免疫抑制状态时进入皮肤真皮层血管或淋巴管内皮细胞,形成病变。HIV感染可通过相关细胞因子激活体内潜伏的HHV-8。

目前认为HHV-8与KS的发生密切相关。KS是一种混合细胞型的血管性肿瘤,常见于艾滋病患者,多发于皮肤,也有发生于消化道和内脏,常造成致死性后果。在各类型的KS中(如HIV相关KS、器官移植后KS等)HHV-8 DNA的检出率都很高,3年内KS的发病率比阴性者高5倍,呈现高度相关。

HHV-8感染的诊断可用PCR加核酸杂交的方法检测病毒DNA,也可采用免疫荧光、ELISA、免疫印迹等方法检测血清抗原或抗体。

目前尚无特异性预防和治疗HHV-8感染的有效措施。抗疱疹病毒有效的药物如更昔洛韦(ganciclovir)和西多福韦(cidofovir)等可用于预防KS的发生,但一旦肿瘤形成,抗病毒药物则无效。积极地抗HIV治疗可有效控制艾滋病患者的KS发生率。

(瞿 涤)

笔记

第三十二章　逆转录病毒

逆转录病毒科(Retroviridae)病毒是一组含有**逆转录酶**(reverse transcriptase, RT)的**RNA病毒**。按其致病作用分为2个亚科,7个病毒属(genera)。正逆转录病毒亚科包括5个(α、β、γ、δ、ε)逆转录病毒属和慢病毒属,泡沫逆转录病毒亚科只含有泡沫病毒属。

对人致病的逆转录病毒主要有:

1. **慢病毒属**(*Lentivirus*)中的**人类免疫缺陷病毒**(human immunodeficiency virus, HIV),是人类**艾滋病**的病原体。

2. **δ 逆转录病毒属**(*Deltaretrovirus*)中的**人类嗜T细胞病毒**(human T lymphotropic viruses, HTLV),HTLV-1型是**成人T淋巴细胞白血病**(adult T cell leukemia, ATL)的病原体。

此外,人及多种动物组织中可检出逆转录病毒的基因序列,整合于细胞染色体上,称内源性逆转录病毒(endogenous retrovirus)。它们与疾病的关系尚待进一步的研究证实。

逆转录病毒的主要特性:

1. 病毒体呈**球形**,直径80~120nm,**有包膜**,表面有**刺突**。

2. 病毒基因组由**两条相同的单正链**RNA组成,病毒体内含有**逆转录酶和整合酶**。

3. 病毒复制经过一个**独特的逆转录过程**,病毒基因组RNA先逆转录为双链DNA,然后整合到细胞染色体DNA中,构成**前病毒**。

4. 具有*gag*、*pol*和*env* 3**个结构基因和多个调节基因**。

5. 宿主细胞受体决定病毒的组织嗜性,成熟病毒以芽生方式释放。

第一节　人类免疫缺陷病毒

HIV是**获得性免疫缺陷综合征**(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)即**艾滋病**的病原体。HIV分为两型:HIV-1和HIV-2。HIV-1在全球流行,HIV-2主要在西非和西欧局部流行。自1983年分离出HIV-1以来,AIDS已迅速蔓延,全球有数千万人感染HIV。HIV主要通过性接触、血液、垂直感染等方式传播,病毒感染后损伤机体免疫系统,最终并发各种致死性的机会性感染和恶性肿瘤。目前AIDS已成为全球最重要的公共卫生问题之一。

我国HIV/AIDS感染状况:自1985年我国发现首例AIDS患者以来,我国HIV感染人数逐年上升。据卫生部统计,截至2012年10月底,中国累计报告HIV感染者和患者为492 191例,存活的感染者和患者383 285例。2012年1~10月新增的HIV感染者中经性途径传播所占比例为84.9%,其中男男同性性传播所占比例为21.1%。目前HIV/AIDS在中国流行的特点是:①性途径已成为主要的传播途径,男男同性性传播比例上升明显;②局部地区和特定人群疫情严重;③感染者陆续进入发病期,AIDS死亡人数增加。

一、　生物学性状

1. **形态结构**　HIV呈**球形**、直径约100~120nm。病毒体外层为**包膜**,镶嵌有由gp120和gp41两种病毒糖蛋白构成的**刺突**。包膜内侧衬有**内膜蛋白**(p17)。**核衣壳**核心为圆柱形,内含**两条相同的单正链**RNA基因组和包裹其外的**核衣壳蛋白**(p7)、**衣壳蛋白**(p24),并携带有**逆转录酶**、**整合酶**、**蛋白酶**和**RNA酶H**(图32-1)。

笔记

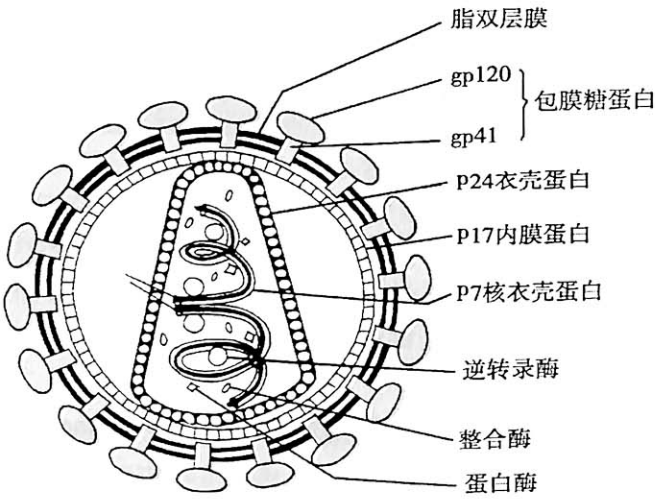


图 32-1 HIV 的结构模式图

gp120 为 HIV **的表面糖蛋白，与靶细胞表面的受体结合决定病毒的亲嗜性，同时也携带中和抗原表位诱导体内中和抗体的产生。**gp120 **易发生变异，有利于病毒逃避免疫清除。**gp41 **为跨膜糖蛋白，介导病毒包膜与宿主细胞膜的融合。**

2. 基因组及其编码蛋白　HIV 基因组为**两条相同的单正链** RNA**，以二聚体的形式存在**。HIV-1 基因组长 9.181kb，HIV-2 基因组长 10.359kb。基因组中间含有 *gag*、*pol* 和 *env* 等 3 **个结构基因**以及 *tat*、*rev*、*nef* 等 6 **个调节基因**；两端是**长末端重复**(long terminal repeat，LTR)，包含启动子、增强子以及其他与转录调控因子结合的序列(图 32-2)。

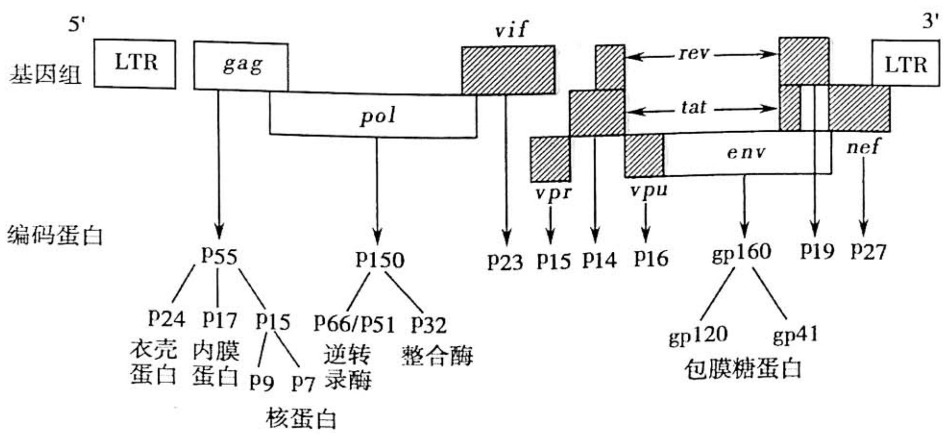


图 32-2 HIV-1 基因组结构及编码蛋白

3 个结构基因编码病毒的结构蛋白和酶。gag **基因**编码多聚前体蛋白 p55，经病毒蛋白酶切割后形成核衣壳蛋白(p7)、衣壳蛋白(p24)和内膜蛋白(p17)等结构蛋白。pol **基因**编码合成的前体蛋白切割后形成蛋白酶(p11)、逆转录酶(p51)、RNA 酶 H(p15)和整合酶(p32)。有部分逆转录酶与 RNA 酶 H 仍然连在一起，形成逆转录酶(p66)，同时具有此两种酶的活性。*env* **基因**编码包膜糖蛋白前体 gp160，随后被裂解为 gp120 和 gp41 两种糖蛋白。6 个调节基因的编码产物控制着 HIV 的基因表达，在致病中起重要作用。Tat 蛋白是反式激活转录因子，可激活 HIV 基因的转录。Rev 蛋白可调节并启动病毒 mRNA 进入细胞质，为 HIV 结构蛋白表达所必需。Nef 蛋白通过多种机制促进 HIV 感染，增强病毒的复制和感染性；抑制感染细胞凋亡；下调细胞表面 MHC Ⅰ类分子的表达，使感染细胞逃逸 CTL 杀伤。表 32-1 示 HIV-1 基因及其编码蛋白。

笔记

表 32-1　HIV-1 基因及其编码蛋白

基因	编码蛋白	蛋白质的功能
结构基因		
gag	p24 和 p7 p17	衣壳蛋白和核衣壳蛋白 内膜蛋白
pol	逆转录酶 RNA 酶 H 蛋白酶 整合酶	逆转录酶活性和 DNA 聚合酶活性 水解 RNA：DNA 中间体中的 RNA 链 切割前体蛋白 使病毒 DNA 与细胞 DNA 整合
env	gp120 gp41	使病毒吸附于细胞表面 介导病毒包膜与宿主细胞膜融合
调节基因		
tat	Tat	反式激活蛋白，激活 HIV 基因的转录
rev	Rev	促进病毒 mRNA 转运至细胞质，为 HIV 结构蛋白表达所必需
nef	Nef	增强 HIV 的复制和感染性；抑制感染细胞凋亡；下调感染细胞表面 MHC Ⅰ类分子的表达
vif	Vif	病毒感染性因子，促进病毒装配和成熟
vpr	Vpr	转运病毒 DNA 至细胞核；抑制细胞生长
vpu	Vpu	介导 CD4 降解；促进病毒释放

3. 病毒的复制　与细胞受体结合是病毒感染的第一环节。HIV **以靶细胞表面的 CD4 分子为主要受体**，CD4 分子主要表达于 $CD4^+$T 淋巴细胞，在单核 - 巨噬细胞、神经胶质细胞等也有表达。除 CD4 分子外，HIV 进入细胞还需要**辅助受体(趋化因子受体 CXCR4 或 CCR5)**。辅助受体协助病毒包膜与细胞膜的融合，CCR5 缺失或 CCR5 基因突变的个体可以避免 HIV-1 的感染或延缓疾病的进展。

HIV 的包膜糖蛋白 gp120 首先与靶细胞表面的 CD4 分子结合，然后再与辅助受体结合，gp120 构象改变，暴露 gp41 融合肽，介导病毒包膜与细胞膜的融合；病毒核衣壳进入细胞内脱壳，释放出基因组 RNA 进行复制。在逆转录酶的催化下，以病毒 RNA 为模板合成负链 DNA，形成 **RNA：DNA 中间体**。中间体中的 RNA 被 RNA 酶 H 水解，再由负链 DNA 合成**互补正链 DNA，形成双链 DNA**。在整合酶的作用下，病毒双链 DNA 基因组整合入细胞染色体中，成为**前病毒**(provirus)，病毒进入潜伏状态。前病毒基因组两端的 LTR 序列有启动和增强病毒基因转录的作用。当前病毒活化进行转录时，在细胞 RNA 聚合酶的催化下，病毒 DNA 转录形成 RNA。有的 RNA 经拼接成为病毒 mRNA，转译病毒的结构蛋白和非结构蛋白；有的 RNA 经加帽和加尾形成病毒子代基因组 RNA，与病毒蛋白装配成核衣壳核心，从细胞膜出芽释放时获得包膜，组成完整的子代病毒体。

4. 型别与抗原变异　HIV-1 和 HIV-2 的病毒核苷酸序列差异超过 40%。根据 *env* 基因序列的同源性将 HIV-1 分为 M(main)、O(outlier)、N(new)3 个组；进一步又根据 *env*、*gag* 等基因序列分为 13 个亚型，其中 M 组包括 11 个亚型(A~K)，O 组和 N 组各有 1 个亚型。HIV-2 至少有 7 个亚型(A~G)。HIV-1 在全球流行，不同地区流行的亚型及重组亚型不同。HIV-2、HIV-1 O 组和 N 组主要局限于西部非洲等地区。我国以 HIV-1 为主要流行株，在部分地区发现有少数 HIV-2 感染者。

笔记

HIV 的显著特点之一是具有高度变异性。HIV 的逆转录酶无校正功能、错配性高是导致 HIV 基因频繁变异的重要因素。*env* 基因最易发生突变，导致其编码的包膜糖蛋白 gp120 抗原变异。gp120 表面抗原变异有利于病毒逃避免疫清除，也给 HIV 疫苗研制带来困难。

5. 抵抗力 HIV 对理化因素**抵抗力较弱**。常用消毒剂 0.5% 次氯酸钠、5% 甲醛、2% 戊二醛、0.5% 过氧乙酸、70% 乙醇等室温处理 10~30 分钟即可灭活 HIV。高压灭菌 121℃ 20 分钟，或者煮沸 100℃ 20 分钟均可达到灭活病毒的目的；但在冷冻血制品中，须 68℃加热 72 小时才能保证灭活病毒。HIV 对紫外线不敏感，有较强的抵抗力。

二、致病性与免疫性

（一）传染源和传播途径

AIDS 的传染源是 **HIV 感染者和 AIDS 患者**。HIV 感染者是指血中 HIV 抗体或抗原阳性而无临床症状的病毒携带者，是重要的传染源。HIV 主要存在于血液、精液、阴道分泌物、乳汁等体液中，主要的传播途径有：

1. 性传播 是 HIV 的主要传播方式，AIDS 是重要的性传播疾病(STD)之一。性活跃人群(包含异性恋和同性恋者)是高危人群。患有其他的性传播疾病能增加 HIV 感染的危险，因为梅毒、淋病、生殖器疱疹等所引起的炎症、溃疡可破坏生殖器黏膜屏障，使 HIV 更易侵入。

2. 血液传播 接受含有 HIV 的血液或血制品、骨髓或器官移植，使用被污染的注射器、针头、手术器械等，均会发生 HIV 感染。静脉毒品成瘾者是高危人群。

3. 垂直传播 通过胎盘、产道、哺乳等途径母婴传播，其中经胎盘感染胎儿最为多见。如不采取干预措施，HIV 母婴传播的概率为 15%~45%，HIV 感染的母亲接受抗逆转录病毒治疗可显著降低母婴间的传播。

（二）致病机制

HIV 感染的主要特点是 $CD4^+$T 淋巴细胞的损耗。$CD4^+$ T 细胞表面大量表达 CD4 分子和辅助受体 CXCR4，是 HIV 攻击的主要靶细胞。**受感染的 $CD4^+$T 细胞数量进行性减少和功能障碍，继发免疫缺陷综合征。HIV 损伤 $CD4^+$T 细胞的机制复杂**，主要有：

1. $CD4^+$ T 细胞破坏增加 ① HIV 感染诱导 $CD4^+$T 细胞融合、抑制 $CD4^+$T 细胞正常的生物合成，导致细胞死亡；② HIV 感染促进 $CD4^+$T 细胞凋亡；③ CTL 对 HIV 感染 $CD4^+$T 细胞的杀伤作用，HIV 抗体介导的 ADCC 对靶细胞的破坏作用等。

2. $CD4^+$ T 细胞产生减少 HIV 可侵犯胸腺细胞、骨髓造血干细胞，使 $CD4^+$T 细胞产生减少。

3. $CD4^+$ T 细胞功能受损 HIV 感染可引起 Th1/Th2 失衡，Th2 呈极化优势，造成 $CD4^+$T 细胞功能障碍。部分感染 HIV 的 $CD4^+$T 细胞能够存活并分化为**记忆 $CD4^+$T 细胞**，在 $CD4^+$ 记忆 T 细胞中 HIV 基因的表达极低。病毒可长期潜伏于这些细胞，构成 **HIV 潜伏的主要存储库**；这是目前无法彻底清除 HIV 的主要原因。

单核 - 巨噬细胞能表达少量的 CD4 分子，其辅助受体为 CCR5。与 $CD4^+$T 细胞不同，单核 - 巨噬细胞可抵抗 HIV 的溶细胞作用，病毒可在细胞内长期潜伏，并随之迁移播散至肺、脑等组织。感染的巨噬细胞丧失吞噬和诱发免疫应答的功能，并成为 HIV 潜伏的另一重要存储库。在感染早期 HIV 主要以侵犯单核 - 巨噬细胞为主(M- 嗜性)，有利于病毒的体内播散；以后逐渐转至以感染 $CD4^+$T 细胞为主(T- 嗜性)，造成 $CD4^+$T 细胞的大量破坏。

（三）临床表现

AIDS 的潜伏期长，自感染到发病有的可达 10 年左右的时间。临床上 HIV 的感染过程可分为 4 个时期。

1. 急性感染期 HIV 感染机体后开始大量复制，引起病毒血症。患者可出现类似流感的**非特异性症状**，如发热、头痛、乏力、淋巴结肿大等。一般约 2~3 周后症状自行消退，进入**无症状潜**

笔记

伏期。在急性感染期从血中可检到 HIV **抗原** p24,但 HIV 抗体可能尚未转阳,通常 HIV 抗体在感染 4~8 周之后才能在血液中检出。

2. 无症状潜伏期 此期持续时间较长,有的可达 10 年左右。患者**一般无临床症状**,或症状轻微,有无痛性淋巴结肿大。血中的 HIV 数量降至较低的水平,但 HIV 在淋巴结中持续存在,并活跃复制。**感染者血中 HIV 抗体检测显示阳性**。

3. AIDS 相关综合征(AIDS-related complex,ARC) 随着 HIV 大量复制并造成机体免疫系统进行性损伤,各种症状开始出现,如低热、盗汗、全身倦怠、慢性腹泻及全身持续性淋巴结肿大等,症状逐渐加重。

4. 免疫缺陷期 即典型 AIDS 期。此期从患者血中能稳定检出高水平的 HIV。患者血中 $CD4^+$ T 细胞明显下降(**$CD4^+$ T 细胞计数 < 200 细胞 /μl**),引起严重免疫缺陷,合并各种机会性感染和恶性肿瘤。未经治疗的患者通常在临床症状出现后 2 年内死亡。

常见的**机会性感染包括**:①真菌感染:主要有**白假丝酵母菌**引起的白假丝酵母菌病、**肺孢子菌**引起的肺孢子菌肺炎、新型隐球菌病、组织胞浆菌病等;②细菌感染:主要有结核分枝杆菌、李斯特菌、某些沙门菌和链球菌引起的疾病;③病毒感染:常见的有巨细胞病毒、单纯疱疹病毒和水痘 - 带状疱疹病毒等引起的病毒性疾病;④原虫感染:主要有隐孢子虫腹泻、弓形体病等。

常见的 **AIDS 相关恶性肿瘤包括**:①疱疹病毒 8 型(HHV-8)引起的卡波西肉瘤;②多克隆 B 细胞恶变产生的恶性淋巴瘤;③ EB 病毒所致的 Burkitt 淋巴瘤;④ HPV 所致的生殖道恶性肿瘤等。

许多 AIDS 患者出现神经系统疾患,如 AIDS 痴呆综合征等。

(四) 免疫性

HIV 感染可诱导特异性细胞免疫和体液免疫应答的产生。CTL、**中和抗体**,以及 NK **细胞**的 ADCC 均在抗 HIV 感染中发挥作用。

感染细胞内病毒的清除主要依靠机体的细胞免疫。研究显示,$CD8^+$ 和 $CD4^+$ T 细胞可部分抑制 HIV 复制,延迟疾病进展。**CTL 可限制 HIV 感染,但不能完全清除病毒,并随疾病进展而下降**。大多数 HIV 感染者可产生中和抗体,中和抗体与 HIV 结合后诱导 ADCC 作用。然而,由于 $CD4^+$ T 细胞首先被感染,$CD4^+$ T 细胞功能的早期丧失可导致特异性 $CD8^+$ T 细胞功能障碍,或因病毒抗原频繁变异逃避了免疫清除作用,使得免疫应答在阻止疾病进展方面变得无效。NK 细胞可通过 ADCC 效应杀伤表达 gp120 的靶细胞,在 HIV 感染早期发挥重要作用,但随病程进展,NK 细胞的功能减弱。

三、微生物学检查

检测 HIV 感染主要用于:① AIDS 的诊断;②指导抗病毒药物的治疗;③筛查和确认 HIV 感染者,以阻断 HIV 的传播途径。

1. 检测病毒抗体 常用 **ELISA 方法筛查** HIV 抗体阳性的感染者,阳性者必须进行确认试验。**确认试验常采用特异性高的蛋白质印迹法**(Western blot)检测待检血清中的 HIV 衣壳蛋白抗体(p24)和糖蛋白抗体(gp41、gp120/gp160)等,确认血清抗体的阳性结果。大多数人在感染 6~12 周内即可在血液中检出 HIV 抗体,6 个月后几乎所有感染者的抗体均呈阳性反应。

2. 检测病毒抗原 ELISA 法检测血浆中 **HIV p24 抗原可用于早期诊断**。p24 抗原在感染早期(约 2~3 周)即可检测到,但应注意,一旦抗体产生,p24 抗原常转为阴性(形成 p24 抗原 - 抗体复合物所致)。在疾病后期,可再现 p24 抗原,并意味着预后不良。

3. 检测病毒核酸 目前常采用**定量 RT-PCR** 方法测定血浆中 HIV RNA 的拷贝数(病毒载量),用于监测疾病进展和评价抗病毒治疗效果。PCR 方法可检测感染细胞中的 HIV 前病毒 DNA,用于诊断血清阳转前的急性感染。

笔记

4. 病毒分离 常采用共培养方法，即正常人外周血单核细胞加 PHA 刺激后，与患者外周血单核细胞作混合培养，检测 HIV 增殖的指标（如融合细胞、逆转录酶活性、p24 抗原等）。病毒分离耗时长（初次分离 HIV 需 4~6 周），且实验室条件要求高，故一般不用于临床常规诊断。

四、防治原则

1. 药物治疗 目前治疗 HIV 感染的药物主要有 4 类：①逆转录酶抑制剂：包括**核苷类逆转录酶抑制剂**（NRTI）和**非核苷类逆转录酶抑制剂**（NNRTI）；②**蛋白酶抑制剂**（PI）；③病毒入胞抑制剂：包括**融合抑制剂**（FI）和 **CCR5 拮抗剂**；④**整合酶抑制剂**（INSTI）。作用于 HIV 复制周期不同环节的抗病毒药物正在不断的研发之中。

为防止产生耐药性，提高药物疗效，目前治疗 HIV 感染使用**多种抗 HIV 药物的联合方案**，称为**高效抗逆转录病毒治疗**（highly active antiretrovial therapy，HAART，俗称"鸡尾酒"疗法）。**HAART 一般是联合应用 2 种核苷类药 + 1 种非核苷类药或蛋白酶抑制剂**。如我国目前免费提供的成人初始抗逆转录病毒治疗方案为：核苷类药齐多夫定（AZT）或司坦夫定（d4T）+ 拉米夫定（3TC）+ 非核苷类药依非韦伦（EFV）或奈韦拉平（NVP），无法耐受非核苷类药者给予蛋白酶抑制剂克力芝（LPV/r）。

HAART 能有效抑制 HIV 复制，控制病情发展，但目前尚不能治愈 AIDS。原因是 HIV 持续潜伏于体内多种细胞中，如记忆 $CD4^+$ T 细胞、单核－巨噬细胞、造血干细胞等，这些病毒存储库的存在不仅使 HIV 逃逸机体的免疫清除，而且在停止抗病毒治疗或治疗失败后病毒数量会迅速反弹。

有效的抗逆转录病毒治疗有望同时发挥治疗和阻断 AIDS 传播的多重功能。HAART 可控制病情，延长 AIDS 患者寿命，同时由于抗病毒治疗降低了患者体液中病毒的数量，传染他人的风险也随之降低。因此 WHO 建议，HIV 感染者应该在早期接受抗病毒治疗，从而减缓病情发展，同时也降低传播几率。WHO 建议：当血液中 $CD4^+$ T 淋巴细胞低于 350/μl（以往治疗指标是低于 200/μl），甚至低于 500/μl 时就应开始抗病毒治疗。

2. HIV 疫苗 **目前尚无有效的 HIV 疫苗上市**，多种疫苗正处于研发之中。**HIV 疫苗研制较为困难**主要与以下原因有关：① HIV 的高变异性、亚型间的差异性；②融合细胞的形成和潜伏感染的方式阻断了抗体的作用；③ HIV 感染和破坏免疫细胞妨碍了免疫应答的诱发；④缺乏合适的动物模型，黑猩猩可以感染 HIV 但并不致病；恒河猴所得结果并不能反映人体的实际情况。用多种 HIV 疫苗联合免疫，诱导中和抗体保护未感染 HIV 的健康人群，用治疗性疫苗增强 CTL 免疫应答，配合抗病毒药物治疗 HIV 感染者，将是人类最终征服 AIDS 的希望所在。

预防措施包括：①普遍开展预防 AIDS 的宣传教育；②建立全球和地区性 HIV 感染的监测网，及时掌握疫情；③对献血、献器官、献精液者必须作 HIV 抗体检测；④洁身自好，提倡安全性生活；⑤禁止共用注射器、注射针、牙刷和剃须刀等；⑥ HIV 抗体阳性妇女，应避免怀孕或避免用母乳喂养婴儿。

第二节 人类嗜 T 细胞病毒

人类嗜 T 细胞病毒（human T lymphotropic viruses，HTLV），归属于人类逆转录病毒科的 δ 反转录病毒属，是引起人类恶性肿瘤的 RNA 肿瘤病毒。HTLV 分为 HTLV-1 和 HTLV-2 两型，其中，**HTLV-1 是成人 T 淋巴细胞白血病**（adult T cell leukemia，ATL）**的病原体**，**HTLV-2 引起毛细胞白血病**。

一、生物学性状

笔记

病毒体呈球形，中央的核衣壳核心内含有 RNA 基因组、逆转录酶等，外由衣壳蛋白包绕，最

外层是病毒包膜，有糖蛋白刺突，包膜糖蛋白 gp46 位于包膜表面，能与靶细胞表面的 CD4 分子结合，gp21 为跨膜蛋白。

病毒基因组为两条相同的单正链 RNA，长约 9.0kb，两端为长末端重复(LTR)，中间有 *gag*、*pol*、*env* 3 个结构基因和 *tax*、*rex* 2 个调节基因。病毒在复制时，以 RNA 为模板，在逆转录酶作用下反转录为 DNA。在逆转录过程中形成的 DNA，两端均获得 LTR，并与细胞染色体整合成为前病毒。

3 个结构基因编码病毒的结构蛋白和非结构蛋白。gag 基因编码前体蛋白，经蛋白酶切割形成基质蛋白 p19、衣壳蛋白 p24 和核衣壳蛋白 p15，组成病毒的衣壳或核衣壳。在感染患者血清中通常可检测到 p24 抗体和 p19 抗体。*env* 基因编码糖蛋白前体，经蛋白酶切割形成 gp46 包膜糖蛋白和 p21 跨膜蛋白，构成病毒包膜表面的刺突。在感染患者血清中通常含有 gp46 抗体，能中和病毒的感染性。*pol* 基因编码的前体蛋白通过自身切割后形成蛋白酶、逆转录酶和整合酶。逆转录酶位于核心内，并与基因组 RNA 结合。逆转录酶抗原性较强，在感染者及患者血清中常含抗逆转录酶抗体。

2 个调节基因的编码蛋白与 HTLV 的致病性有关。*tax* 基因编码的 Tax 蛋白属反式激活蛋白，能够诱导感染细胞内 NF-κB 途径的活化，促进 T 细胞异常增殖；亦可与启动子等转录元件相互作用，激活 HTLV 前病毒 DNA 的转录，促进病毒复制。*rex* 基因编码的两种蛋白能与病毒 mRNA 的特定结构结合，由此阻止 mRNA 的剪接和促进 mRNA 转运至细胞质。

二、致病性与免疫性

HTLV-1 主要感染 $CD4^+$ T 细胞，是成人 T 细胞白血病(ATL)的病原体，另外亦能引起热带下肢痉挛性瘫痪和 B 细胞淋巴瘤等。ATL 最早于 1977 年由日本报道，高发区在日本、印度、非洲等。我国福建沿海和北方少数民族地区发现有小流行，其他地区有少数散在病例。

HTLV-1 的传染源是患者和 HTLV 感染者，主要通过输血、性接触传播，亦可经胎盘、产道和哺乳等途径母婴传播。ATL 好发于 40 岁以上成人，HTLV 感染后多无临床症状，经长期潜伏，**约有 1/20 的感染者发展为 ATL**。ATL 的临床表现多样，分为**急性型、淋巴瘤型、慢性型和隐匿型 4 型**。主要的临床表现为淋巴结肿大、肝脾肿大、皮肤损害等，有些病例出现高钙血症，外周血白细胞增高并出现异形淋巴细胞。急性型和淋巴瘤型 ATL 的病情进展快，预后不良。

HTLV 的致瘤机制与其他 RNA 肿瘤病毒不同。目前认为 HTLV-1 诱发 T 细胞白血病的机制与其产生的调节蛋白 Tax 有关。Tax 蛋白能反式激活多种细胞因子基因，间接促进 T 细胞的异常增殖，如 Tax 蛋白活化 NF-κB，NF-κB 进而上调 IL-2 基因和 IL-2 受体基因的表达，过量表达的 IL-2 与细胞 IL-2 受体结合刺激 T 细胞过度生长；Tax 蛋白也可通过激活 NF-κB 来诱导原癌基因 Bcl3 高表达，引起细胞无限增殖和转化。另外，前病毒 DNA 整合导致染色体畸变，也可引起细胞转化，最终演变为白血病细胞。

机体被 HTLV-1 感染后，可出现特异性抗体和细胞免疫。细胞免疫可杀伤带有病毒抗原的靶细胞；但抗体出现后病毒抗原表达减少，影响细胞免疫清除感染的靶细胞。

三、微生物学检查

目前 HTLV 感染的病原学诊断主要依靠血清中 HTLV 特异性抗体的检测以及细胞中 HTLV 前病毒 DNA 的检测。

血清学初筛试验：① ELISA：用 HTLV-1 病毒裂解物或裂解物加重组 env p21 蛋白作包被抗原，检测血清中 HTLV-1/2 抗体(HTLV-1 和 HTLV-2 有血清交叉反应，常规方法不能区分)；使用重组 env 蛋白或型特异合成肽抗原检测相应抗体，能区别 HTLV-1 和 HTLV-2 感染，使诊断更为特异。②免疫荧光：以 HTLV-1/2 感染的 T 细胞株作抗原，加待测血清反应后再加荧光标记

笔记

的抗人 IgG,荧光显微镜下观察荧光阳性细胞。

确认试验:上述初筛试验的阳性血清需经 Western blot 试验确认诊断。

PCR 检测外周血单个核细胞中的 HTLV 前病毒 DNA,敏感性高,可协助确定诊断。

病毒的分离主要依赖 T 细胞的活化和细胞培养的条件。患者标本与外周血单个核细胞作共培养可提高 HTLV 分离的阳性率。

四、防 治 原 则

目前 HTLV 感染尚无特异的疫苗用于预防,控制措施为及时发现感染者、切断传播途径。治疗可采用逆转录酶抑制剂、IFN-α 、联合化疗等综合方案。

(赵蔚明)

第三十三章 其他病毒

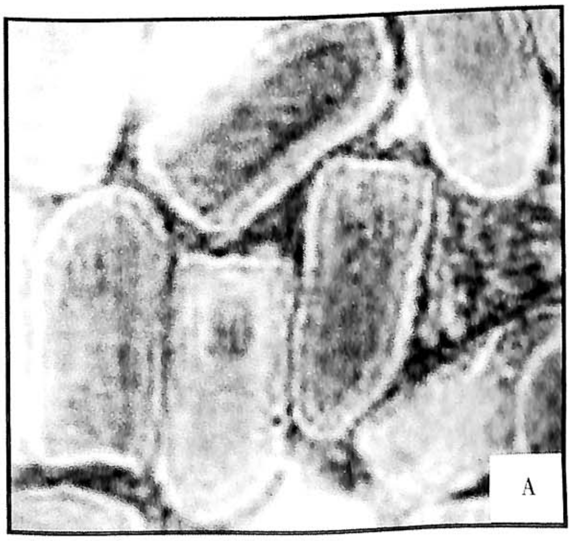
第一节 狂犬病病毒

狂犬病病毒(rabies virus)属于**弹状病毒科**(Rhabdoviridae)**狂犬病病毒属**(*Lyssavirus*),是一种嗜神经性病毒,可以引起犬、猫和多种野生动物的自然感染,并可通过动物咬伤或密切接触等形式在动物间或动物人类间传播而引起狂犬病。**狂犬病**(rabies)又称**恐水症**(hydrophobia),是一种人兽共患的自然疫源性疾病,是目前病死率最高的传染病,一旦发病,病死率近乎 100%,至今尚无有效的治疗方法。预防狂犬病的发生尤其重要。

一、生物学性状

(一) 形态结构

狂犬病病毒形态似子弹状,一端钝圆,另一端扁平,平均大小为(130~300)nm × (60~85)nm,有包膜。由核蛋白 N、磷蛋白 P(或称基质蛋白 M1)和聚合酶 L 蛋白组成病毒的蛋白质衣壳,并呈螺旋对称排列包裹病毒 RNA,共同形成病毒核衣壳。病毒包膜由外层糖蛋白 G 和内层基质蛋白 M2 组成(图 33-1)。病毒基因组为非分节段单股负链 RNA(- ssRNA),基因组总长 12kp,从 3′ 到 5′ 端依次为先导序列—编码 N、P/M1、M2、G、L 蛋白的 5 个结构基因—非编码区,各个基因间含有非编码的间隔序列。病毒主要编码 5 种蛋白,N 蛋白为具有保护病毒 RNA 功能的核蛋白,P/M1、M2 蛋白分别构成病毒衣壳和包膜,L 蛋白为 RNA 依赖的 RNA 聚合酶,G 蛋白构成病毒包膜的糖蛋白刺突,决定病毒的感染性、血凝性和毒力等。



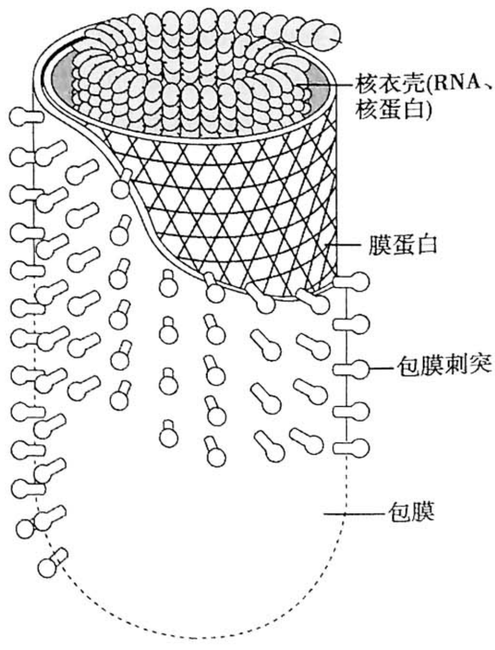


图 33-1 狂犬病病毒的形态与结构

A. 病毒形态 负染,× 200 000,透射电镜;B. 病毒结构模式图

笔 记

(二) 病毒的复制

狂犬病病毒在感染细胞的细胞浆中进行复制。病毒包膜表面糖蛋白 G 与神经细胞表面乙酰胆碱受体(acetylcholinereceptor, AchR)特异结合后,促进病毒吸附,并引起吸附病毒部位的细胞膜内陷、包裹病毒穿入细胞,进而通过膜融合以及脱衣壳的过程将病毒核酸释放至细胞浆中,随后病毒 -ssRNA 分别指导病毒基因的 mRNA 转录以及 N、P/M1、M2、G 和 L 蛋白的合成,并合成互补正链 RNA 作为模板复制子代病毒的 -ssRNA,最后病毒 -ssRNA 与 N、P/M1 和 L 蛋白质装配成核衣壳,并以出芽形式释放出病毒颗粒,同时获得包含 G 蛋白和 M2 蛋白的病毒包膜。

狂犬病病毒可以在多种家畜或宠物(如犬、猫等)及野生动物(如狼、狐狸等)中自然感染与传播。在易感动物或人的中枢神经细胞(主要是大脑海马回的锥体细胞)中增殖时,可在细胞浆中形成一个或多个、圆形或椭圆形、直径为 20~30nm 的嗜酸性包涵体,称**内基小体**(Negri body)(图 33-2),可以作为辅助诊断狂犬病的指标。



图 33-2 狂犬病病毒感染神经细胞浆中的内基小体(×1000,HE 染色)

(三) 病毒抗原和毒力变异

病毒包膜糖蛋白 G 和核蛋白 N 是狂犬病病毒的重要抗原。糖蛋白 G 可以刺激机体产生中和抗体、血凝抑制抗体和细胞免疫应答;核蛋白 N 具有病毒属特异性,能够以核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)的形式诱导机体保护性细胞免疫应答,并能产生补体结合抗体和沉淀素抗体,但不能产生保护性抗体。另外,不同来源的狂犬病病毒分离株的抗原性不同,主要是由于病毒包膜糖蛋白 G 的抗原性差异。

狂犬病病毒可以发生毒力变异。从自然感染动物体内分离到的病毒毒力强,称为**野毒株**(wild strain)或**街毒株**(street strain)。将野毒株在家兔脑内连续传代后,病毒对家兔致病的潜伏期随传代次数的增加而逐渐缩短,至 20 世纪 50 代左右潜伏期由原来的 4 周左右缩短为 4~6 天,但继续进行传代,潜伏期不再缩短,并表现为对家兔的致病性增强,对人或犬的致病性明显减弱,并且不能通过脑外途径接种引起犬的脑神经组织感染而发生狂犬病。这种变异的狂犬病病毒被称为**固定毒株**(fixed strain)。

(四) 抵抗力

狂犬病病毒对热、紫外线、日光、干燥的抵抗力弱。病毒悬液经 56℃ 30~60 分钟或 100℃ 2 分钟作用后病毒即失去活力。但在脑组织内的病毒于室温或 4℃条件下可保持传染性 1~2 周。冷冻干燥后的病毒可保存数年。酸、碱、脂溶剂、肥皂水、去垢剂等有灭活病毒的作用。

二、致病性与免疫性

(一) 致病性

狂犬病病毒能引起多种家畜和野生动物(如犬、猫、牛、羊、猪、狼、狐狸、鹿、臭鼬、野鼠、松鼠等)的自然感染。吸血蝙蝠等也可能是病毒在自然界的重要储存宿主。动物间的狂犬病主要是通过患病动物咬伤健康动物而传播的。病犬的临床表现分为狂暴型和麻痹型两种。狂暴型包括前驱期、兴奋期和麻痹期 3 个阶段;而麻痹型主要以麻痹症状为主,兴奋期极短或无。病犬的整个病程一般不超过 5~6 天,病猫的临床表现主要以狂暴型为多,病程较短。

笔记

病犬是发展中国家狂犬病的主要传染源,80%~90% 的狂犬病病例是由病犬传播的,其次是

由家猫和狼传播的。但野生动物(如狐狸、蝙蝠、臭鼬和浣熊等)逐渐成为发达国家狂犬病的重要传染源。患病动物唾液中含有大量的病毒,于发病前5天即具有传染性。隐性感染的犬、猫等动物亦有传染性。

人对狂犬病病毒普遍易感,主要通过被患病动物咬伤、抓伤或密切接触而感染和引起狂犬病。黏膜也是病毒的重要侵入门户,如患病动物的唾液污染眼结合膜等,也可引起发病。人被狂犬咬伤后的发病率为30%~60%。潜伏期通常为3~8周,短者10天,长者可达数月或数年。咬伤部位距头部愈近、伤口愈深、伤者年龄愈小,则潜伏期越短。此外,入侵病毒的数量、毒力以及宿主的免疫力等因素也与狂犬病的发生有关。狂犬病一旦发生,病死率近乎100%。

狂犬病病毒对神经组织有很强的亲和力。病毒在被咬伤部位周围的横纹肌细胞内缓慢增殖4~6天后侵入周围神经,进而沿周围传入神经迅速上行到达背根神经节后大量增殖,并侵入脊髓和中枢神经系统,侵犯脑干及小脑等处的神经元,使神经细胞肿胀、变性,形成以神经症状为主的临床表现(如痉挛、麻痹和昏迷等)。最后,病毒沿传出神经侵入各组织与器官(如舌、唾液腺和心脏等),引起迷走神经核、舌咽神经核和舌下神经核受损,导致患者容易发生呼吸肌、吞咽肌痉挛,在临床上出现恐水、呼吸困难和吞咽困难等症状。其中,特殊的恐水症状表现在饮水或听到流水声时,均可引起严重的咽喉肌痉挛,故亦称狂犬病为恐水症。另外,当交感神经受刺激时,可出现唾液和汗腺分泌增多;当迷走神经节、交感神经节和心脏神经节受损时,可引起心血管功能紊乱或猝死。

(二)免疫性

机体感染狂犬病病毒后可产生细胞免疫和体液免疫。杀伤性T淋巴细胞可以特异性地作用于病毒G蛋白和N蛋白引起病毒溶解,单核细胞产生的IFN和IL-2具有抑制病毒复制和抵抗病毒攻击的作用。通过中和抗体、血凝抑制抗体和抗体依赖细胞毒作用等可发挥抗病毒作用,主要机制包括中和游离状态的病毒、阻断病毒进入神经细胞,以及调节T淋巴细胞对狂犬病病毒抗原的作用等。

三、微生物学检查

根据动物咬伤史和典型的临床症状通常可以诊断狂犬病。但对于潜伏期、发病早期或咬伤不明确的可疑患者,需要及时进行微生物学检查辅助确诊。

首先对可疑动物进行隔离、观察,对发病动物进行微生物学检查,即捕获可疑动物并隔离观察7~10天,如动物出现狂犬病症状,杀死动物取脑组织制成切片或印片后,进行直接免疫荧光实验检查病毒抗原或内基小体;或者将动物10%脑组织悬液接种于小鼠脑内,再检查发病小鼠脑组织中的内基小体或病毒抗原,可以提高阳性检出率。

其次通过免疫学检测、病毒分离等方法进行微生物学检查,可以辅助诊断可疑患者的狂犬病病毒感染。但是,对于微生物学检查阴性的可疑患者,仍然需要早期接种狂犬病病毒疫苗,以预防狂犬病的发生。

1. 用免疫荧光、酶联免疫等技术可以对可疑患者的唾液、分泌物、尿沉渣、角膜印片等标本中的病毒抗原以及血清中的相应抗体进行特异性检测,可用于狂犬病病毒感染的快速诊断及流行病学调查。常用直接免疫荧光法检测标本中的病毒抗原进行狂犬病的诊断。当病毒感染后1周左右时,患者血清中的中和抗体效价逐渐上升,但接种过狂犬病疫苗的可疑患者的中和抗体效价必须超过1:5000以上才能诊断。

2. 取可疑患者的唾液、脑脊液或死后脑组织混悬液等材料,接种易感动物进行狂犬病病毒的分离,然后用特异性中和试验进行鉴定和确诊,但阳性率低。对于死亡患者,可以通过制备死亡患者脑组织印片或病理切片,用特殊染色或免疫荧光标记后观察内基小体进行确诊,阳性率约70%~80%。

笔记

四、防治原则

通过对犬等动物进行预防接种、严格管理以及捕杀野犬等措施，可有效地降低狂犬病的发病率。开展人群预防接种是控制狂犬病发生的关键。

人被可疑患病动物咬伤后，应立即对伤口进行处理。可用清水、3%~5% 肥皂水或 0.1% 苯扎溴铵充分清洗伤口，对于严重咬伤者较深的伤口，应该对伤口深部进行灌流清洗，再用 75% 乙醇或碘酊涂擦消毒。

人被狂犬病病毒感染后，发生狂犬病的潜伏期较长，及时接种狂犬病疫苗进行**暴露后预防接种**(post-exposure prophylaxis)，可以有效控制狂犬病的发生。常用人二倍体细胞培养制备的**狂犬病病毒灭活疫苗**(human diploid cell vaccine，HDCV)进行全程免疫，即分别于第 0、3、7、14 和 28 天进行肌肉(三角肌或大腿前侧肌肉)注射。全程免疫后可以在 7~10 天产生中和抗体，并保持免疫力 1 年左右。对于长期接触家畜、野生动物或者进行狂犬病病毒研究的高危人群，可分别于第 0、7、21 或 28 天接种狂犬病疫苗 3 次，进行**暴露前预防接种**(pre-exposure prophylaxis)；并定期检查血清抗体水平，及时进行加强免疫。加强免疫通常是在第 0、3 天接种疫苗 2 次。在进行疫苗接种时，少数患者可能出现局部炎症及轻度全身反应。

在伤口严重等特殊情况下，应联合使用人**抗狂犬病免疫球蛋白**(rabies immune globulin，RIG)或马抗狂犬病血清进行被动免疫(passive immunization)，必要时需联合使用干扰素以增强保护效果，并在疫苗全程注射后加强免疫接种 2~3 次。进行被动免疫时需要预先进行皮肤试敏实验。

第二节 人乳头瘤病毒

人乳头瘤病毒(human papillomavirus，HPV)属于**乳头瘤病毒科**(Papovaviridae)**乳头瘤病毒属**(*Papillomavirus*)，主要引起人类皮肤黏膜的增生性病变，其中高危性 HPV(16 型、18 型等)与子宫颈癌等恶性肿瘤的发生密切相关，低危性 HPV(6 型、11 型等)引起生殖器尖锐湿疣。

一、生物学特性

HPV 呈球形，直径 52~55nm，二十面体立体对称，无包膜。病毒基因组是超螺旋双链环状 DNA，约 8 kp，分为**早期区**(early region，ER)、**晚期区**(late region，LR)和**非编码区**(NCR)。NCR 也称**长控制区**(long control region，LCR)或**上游调节区**(URR)。

LR 包括 2 个 ORF(L1 和 L2)，分别编码病毒主要衣壳蛋白 L1 和次要衣壳蛋白 L2。基因工程表达的 L1 和 L1+L2 蛋白具有自我组装的特性，在真核细胞内可组装成**病毒样颗粒**(virus-like particle，VLP)，VLP 不含病毒核酸，其空间构象及抗原性与天然 HPV 颗粒相似，可诱发机体产生中和抗体。E 区含 7 个早期 ORF(E1~E7)，编码与病毒复制、转录调控、翻译和细胞转化有关的蛋白。E1 和 E2 蛋白是病毒复制的基础，与转录调控有关，E2 蛋白能增强 LCR 调节和早期基因(E6、E7)的转录，E1 的失活可导致病毒 DNA 插入宿主染色体任何部位；E1、E4 能降解角蛋白引起细胞骨架的萎陷，参与病毒扩散；E5、E6、E7 是转化基因，编码的蛋白可与 p53、pRB 蛋白结合，引起细胞转化。

根据病毒核苷酸序列的不同，现已发现 HPV 有 100 余型，各型之间的 DNA 同源性均小于 50%，如同源性大于 50% 且有限制性内切酶片段明显不同的型别为亚型。

HPV 对皮肤和黏膜上皮细胞具有高亲嗜性，增殖的病毒只能在皮肤上层的细胞核中查到，在基底层细胞内仅发现有低拷贝的病毒核酸，早期基因位于棘细胞层，晚期基因表达(衣壳蛋白)被限定在上皮细胞的最上层。病毒 DNA 复制主要发生在表皮棘细胞层和颗粒层，并诱导上皮增殖，表皮增厚，伴有棘细胞增生和表皮角化。上皮的增殖形成乳头状瘤，也称为疣(wart)。病

笔记

毒 DNA 的一段游离基因(episome)常能插入宿主染色体的任意位置,而导致细胞转化。由于 HPV 复制需要依赖与细胞分化阶段密切相关的上皮细胞因子等,迄今尚不能在常规的组织细胞中进行培养。

二、致病性和免疫性

HPV 根据感染部位不同可分为嗜皮肤性和嗜黏膜性两大类,两类之间有一定交叉。皮肤受紫外线或 X 射线等照射造成的很小损伤,以及其他理化因素造成的皮肤、黏膜损伤均可为 HPV 感染创造条件。传播主要通过直接接触感染者的病变部位或间接接触被病毒污染的物品。生殖道感染与性行为,尤其与近期性行为关系密切,HPV 阳性率与性伙伴数量呈正相关,故 HPV 是性传播疾病的病原体,引起的生殖道感染属于**性传播疾病**(sexually transmitted disease,STD)。患有生殖道 HPV 感染的母亲在分娩过程中可以通过母婴间垂直传播引起新生儿感染。

HPV 由于型别及感染部位不同,所致疾病不尽相同,包括皮肤疣、跖疣、扁平疣、生殖道湿疣和喉部乳头瘤等。

皮肤疣包括扁平疣(common wart)**和跖疣**(plantar wart)多属于自限性和一过性损害,而且病毒仅停留于局部皮肤和黏膜中,不产生病毒血症。1、2、3 和 4 型主要引起手和足部角化上皮细胞感染,引起寻常疣,多见于少年和青春期。7 型通常感染屠夫及卖肉者的手部皮肤,引起**肉贩疣**(butcher wart);扁平疣常由 3、10 型引起,多发于青少年颜面、手背与前臂等处。

尖锐湿疣(condyloma acuminatum)主要由 HPV6、HPV11 感染泌尿生殖道引起,也称为生殖器疣(genital wart,GW),属于性传播疾病,近年发病率有逐年增高趋势。女性感染部位主要是阴道、阴唇和宫颈,男性多见于外生殖器及肛周等部位。尖锐湿疣很少癌变,故 HPV6、HPV11 属低危性 HPV。HPV6、HPV11 型还可引起儿童咽喉乳头瘤,虽然属良性瘤,但严重者可因阻塞气道而危及生命。

宫颈癌等生殖道恶性肿瘤主要与多型别高危性 HPV 感染有关,病毒感染引起的宫颈、外阴及阴茎等生殖道上皮内瘤样变,长期发展可成为恶性肿瘤,最常见为子宫颈癌。与子宫颈癌发生最相关的是 HPV16、18 型,其次是 31、45、33、35、39、51、52 和 56 型。HPV57b 与鼻腔良、恶性肿瘤有关,HPV12、32 型等与口腔癌有关。

目前认为 HPV 感染正常宫颈鳞状上皮是引发子宫颈癌的始动因素,HPV 感染经过一段潜伏期后,E6、E7 基因表达增加,并分别与 p53 和 pRB 蛋白结合促使降解,阻断 p53 和 pRB 对细胞周期的负调节作用,诱导**细胞永生化**(immortalization),使被感染细胞发生转化。当然,HPV 感染并非子宫颈癌发生的唯一因素,如被感染过程中宿主基因突变,或野生型 p53 基因突变,或环境中其他因素的作用等均对宫颈癌的发生、发展产生影响。

三、微生物学检查

HPV 感染有典型临床损害时可根据临床表现迅速做出诊断,但亚临床感染时则需进行组织细胞学、免疫学和分子生物学等实验室检测。

1. 核酸检测 HPV 分型和实验室诊断可采用 DNA 分子杂交,一般使用 HPV 共有序列或型特异性探针,可检测到组织中约 50 个 HPV 基因组拷贝;在组织切片上原位杂交可检测到每个细胞最少 10~15 个病毒基因拷贝。以 HPV DNA 特异性的保守区分别设计各型引物进行 PCR 扩增,再用特异性探针杂交方法检测扩增产物,是 HPV 感染的快速诊断、特异、敏感方法。

2. 血清学试验 以人工合成的病毒蛋白表位的抗原或基因工程表达的 HPV 病毒样颗粒为抗原,设计 VLP-ELISA 法,或用表达的融合蛋白为抗原,用蛋白印迹法可以检测患者血清中的抗体。

笔记

四、防治原则

用局部药物治疗或冷冻、电灼、激光、手术等疗法可去除皮肤黏膜的寻常疣和尖锐湿疣。由L1蛋白制备的HPV病毒样颗粒疫苗(Human papillomavirus virus-like particle vaccine，HPV VLP vaccine)，包括二价(HPV16、18型)和四价(HPV6、11、16、18型)两种疫苗，对子宫颈癌以及生殖器疣有预防效果。

第三节 细小DNA病毒

细小DNA病毒(parvovirus)属于**细小病毒科**(Parvoviridae)，是一类具有单股DNA基因组、形态最小的DNA病毒。目前，对人致病的细小DNA病毒有红病毒属(*Erythrovirus*)的B19病毒(human parvovirus B19，B19)、博卡病毒属(*Bocavirus*)的人类博卡病毒(human Bocavirus，HBoV)和依赖病毒属(*Dependovirus*)的腺病毒伴随相关病毒(Adeno-associated virus，AAV)。

细小DNA病毒直径为18~26nm，呈二十面体结构的蛋白衣壳由3种蛋白组成，无包膜，对脂溶剂、热不敏感。病毒基因组为线状单链DNA(ssDNA)，约5.5kb。病毒主要在细胞核中复制，根据病毒在细胞中独立复制的能力，可以分为自主复制型(如B19病毒、HBoV)和复制缺陷型(如AAV)两个类型。其中，自主复制型病毒必须在分裂旺盛的细胞中进行复制，复制缺陷型病毒则需要辅助病毒(如腺病毒)的存在才能复制。

细小DNA病毒主要通过呼吸道和消化道黏膜以及血液和胎盘感染与传播。B19病毒对骨髓中分裂旺盛的红系前体细胞具有高度亲嗜性，通过直接杀细胞作用和免疫病理损伤而致病，主要与人类的**传染性红斑**(erythema infectiosum)、镰状细胞贫血患者的一过性再生障碍危象(transit aplastic crisis)以及先天感染造成的自发性流产(spontaneous abortion)等有关。B19病毒感染孕妇后，可以通过胎盘侵袭胎儿，杀伤红细胞前体细胞，并引起胎儿严重贫血、流产或死亡。机体感染B19病毒后，可产生特异性的IgM和IgG抗体。

HBoV是2005年瑞典学者首次在儿童呼吸道分泌物中发现的一种新型人类细小病毒，是婴幼儿急性下呼吸道感染的重要病原之一。HBoV感染主要流行在12月和1月，感染者几乎全部是婴幼儿，感染率约5.6%。HBoV感染与呼吸道合胞病毒感染相似，主要引起肺炎或支气管肺炎等。

AAV有1~6个血清型，各型之间有共同抗原。部分型别AAV可以引起人群的自然感染，并产生抗体，但确切的临床表现不明。另外，由于AAV具有整合于人类第19号染色体长臂的特点，AAV载体可应用于基因治疗。

细小DNA病毒感染通常可以根据临床表现进行诊断；确定诊断可以通过检测病毒DNA或特异性抗体进行。尚无有效的疫苗和特异性治疗方法。

第四节 痘 病 毒

痘病毒(poxvirus)属于痘病毒科(Poxviridae)，可以引起人类和多种脊椎动物的自然感染。其中，天花病毒(variola virus)和传染性软疣病毒(molluscum contagiosum virus，MCV)仅感染人类，但猴痘病毒(monkeypox virus)、牛痘病毒(cowpox virus)以及其他动物痘病毒也可以引起人类的感染。

痘病毒是最大的病毒，结构也最复杂，呈砖型或卵型，(300~450)nm × 260 nm × 170nm，有包膜，由30种以上的结构蛋白组成的蛋白衣壳呈复合对称形式，病毒核心由双股线形DNA(130~375kb)组成，病毒核心两侧存在有1~2个**侧体**(lateral body)(图33-3)。痘病毒在感染细胞

笔记

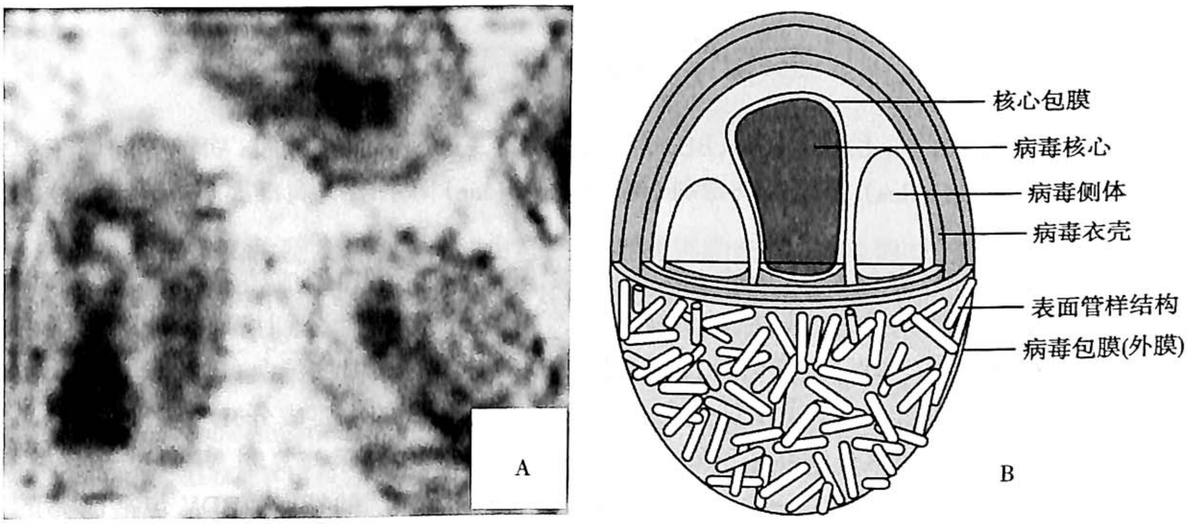


图 33-3　痘病毒形态与结构

A. 天花病毒，负染，×100 000，透射电镜；B. 病毒结构，由内向外是病毒核心、侧体、衣壳和包膜

浆内增殖，病毒基因组含有约 185 个 ORF，可指导合成 200 种以上的病毒蛋白质。成熟的病毒以出芽形式释放。

痘病毒感染的传染源是感染的人或动物，主要通过呼吸道分泌物、直接接触等途径进行传播。人类的痘病毒感染主要包括天花、人类猴痘和传染性软疣等。

1. **天花**（smallpox）　是由天花病毒引起的烈性传染性疾病，曾经在世界各地广泛流行。人是天花病毒感染的唯一宿主，主要通过呼吸道和直接接触传播，引起高热、面部及全身皮肤出现水疱或脓疱等症状，病死率很高，部分痊愈者面部等部位残留有明显的瘢痕。自世界卫生组织（WHO）启动**全球消灭天花计划**（global smallpox eradication program）以来，至 1980 年天花在全球范围内已经根除。目前，由于计划免疫的终止而形成的人群无免疫状态，导致天花病毒成为潜在的生物武器而受到重视。

2. **人类猴痘**（human monkeypox）　与天花的临床表现相似，主要表现为高热、局部淋巴结肿大和全身发生水疱和脓疱，并伴有出血倾向，病死率在 11% 左右。主要是由于与野生动物（草原土拨鼠等）直接接触感染猴痘病毒所致。最早见于非洲扎伊尔，近年在美国等地也有感染病例的出现。

3. **牛痘**（cowpox）　是牛痘病毒引起的挤奶工人等密切接触者的轻度皮肤水疱样改变，一般无严重的全身感染。**痘苗病毒**（vaccinia virus）是一种牛痘病毒的毒力变异株，与天花病毒具有交叉免疫原性，主要用于天花的计划免疫。预防接种后通常仅于接种部位引起轻微的皮肤反应，但是在免疫缺陷的易感人群中可能引起严重的**进行性牛痘**（progressive vaccinia）、**疫苗接种后脑炎**（post-vaccinal encephalitis）和**扩散性种痘疹**（generalized vaccinia rash）等疾患。目前，痘苗病毒主要作为研究痘病毒基因调控的模型或表达外源蛋白质的载体广泛应用。

4. **传染性软疣**（molluscum contagiosum）　是由传染性软疣病毒引起的皮肤白色的疣状物，主要通过皮肤接触传播，人是其唯一的感染宿主，儿童多见。该病毒也可以经过性接触传播，引起生殖器传染性软疣。软疣可自行消退，不留瘢痕。

免疫接种痘苗病毒可以预防天花、人类猴痘的发生，但是目前仅对高危人群进行接种，一般不采用大规模的疫苗接种来预防天花、人类猴痘等。注射**痘苗免疫球蛋白**（vaccinia immune globin，VIG）可以获得良好的被动免疫效果。

第五节 博尔纳病病毒

博尔纳病病毒(Borna disease virus,BDV)与副黏病毒、狂犬病病毒、Ebola 病毒等同属于单负链病毒目(Mononegavirales),是副黏病毒科(Paramyxoviridae)博尔纳病病毒属(*Bornavirus*)的原型病毒。

BDV 颗粒呈球形,有包膜,大小约 100nm,病毒核酸与衣壳蛋白形成核衣壳,为螺旋对称。病毒核酸为 8.9kb 的非分节段、线性、单负链 RNA,含有 6 个读码框,分别指导 6 种病毒蛋白的合成。其中,核蛋白 N(p40)、X 蛋白(p10)、磷蛋白 P(p24)组成核糖核蛋白(RNP),与病毒 RNA 共同组成核衣壳,基质蛋白 M(p16)、糖蛋白 G(p56)是病毒包膜的主要成分,L 蛋白(p180)是病毒 RNA 聚合酶。与其他单负链病毒不同,BDV 具有在细胞核中转录与复制,并通过 RNA **拼接**(RNA splicing)和**转录过阅读**(readthrough)方式调控病毒基因表达的特点。BDV 包括已有的一个血清型和新近发现的感染鸟类的血清型,感染机体后产生中和性抗体的滴度很低。

BDV 具有非致细胞病变作用和高度的嗜神经性,主要通过密切接触引起感染,感染宿主范围广,可以引起几乎所有温血动物的持续性感染。**博尔纳病**(Borna disease,BD)是 18 世纪末在德国博尔纳镇等地流行的一种动物中枢神经系统疾病,主要表现为马、羊等家畜的行为、运动异常以及渐进性死亡,目前该病已经绝迹。另一方面。已证明约 1/3 的抑郁症、精神分裂症等患者的血清中可以检测出 BDV 抗体,或在患者末梢血白细胞及尸检脑组织中检测到病毒 RNA 或抗原,提示 BDV 感染可能与人类的某些精神神经疾病有关。另外,BDV 相关蛋白可以通过抑制宿主天然免疫等参与病理过程。

由于 BDV 在细胞中低拷贝复制的特点,需要建立敏感、特异的检测技术,以检测病毒抗体、抗原或病毒 RNA 进行辅助诊断。金刚烷胺等有一定的抗病毒效果。尚无有效疫苗。

(张凤民)

笔记

第三十四章　朊　　粒

朊粒(prion)**又称朊病毒,是一种由宿主细胞基因编码的、构象异常的蛋白质,不含核酸,具有自我复制能力和传染性。**朊粒是**人和动物传染性海绵状脑病**(transmissible spongiform encephalopathy,TSE)**的病原体。**

1982 年美国学者 Stanley B. Prusiner 首次证实羊瘙痒病致病因子的本质是一种传染性蛋白颗粒(proteinaceous infectious particle),并将其命名为"prion"。**Prusiner 因在 prion 研究中的杰出贡献而荣获 1997 年诺贝尔生理学或医学奖。**

TSE 研究领域的第一位诺贝尔获奖者是美国学者 Daniel C.Gajdusek。20 世纪 50 年代末,Gajdusek **首次发现库鲁**(Kuru)**病的传染性,并证明库鲁病是人类第一个由"慢病毒"**(slow virus)**感染所致的疾病,因而荣获 1976 年诺贝尔生理学或医学奖**(注:当时认为"慢病毒"是一种非寻常的病毒,但对其本质尚不清楚。以后的研究基本证实"慢病毒"就是 prion。prion 一词源于 proteinaceous infectious particle,中译名较多,如:朊粒、朊病毒、朊毒体等)。

一、生物学性状

朊粒的本质是一种异常折叠的**朊蛋白**(prion protein,PrP),其分子量约为 27~30kDa。这种异常蛋白在电镜下呈纤维状或杆状(直径约 10~20nm,长约 100~200nm),称为羊瘙痒病相关纤维(scrapie associated fibril,SAF)。在某些 TSE 的脑组织中 prion 可聚集形成光学显微镜下可见的淀粉样斑块。

人类和多种哺乳动物的染色体中存在着编码朊蛋白的基因。人类 PrP 基因位于第 20 号染色体,小鼠 PrP 基因位于第 2 号染色体,两者的同源性高达 90%。在正常情况下,PrP 基因编码产生**细胞朊蛋白**(cellular prion protein,PrP^C)。PrP^C 是一种正常的糖基化膜蛋白,人类 PrP^C 有 253 个氨基酸,通过糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定于细胞膜表面,在多种组织尤其是中枢神经系统神经元中普遍表达。目前,PrP^C 确切的生理功能尚不清楚,可能与细胞的跨膜信号传导有关。PrP^C 的分子构象**主要由 α 螺旋组成,对蛋白酶 K 的消化作用敏感,可溶于非变性去污剂,没有致病性。**

在某些因素作用下,PrP^C 错误折叠、构象发生异常改变,形成具有致病作用的**羊瘙痒病朊蛋白**(scrapie prion protein,PrP^{Sc}),即朊粒。PrP^{Sc} 的分子构象**以 β 折叠为主,仅存在于感染的人和动物组织中,对蛋白酶 K 有抗性,具有致病性与传染性**(图 34-1)。由此可见,PrP^{Sc} 是 PrP^C 的同源异构体(isoform),两者由同一染色体基因编码,其氨基酸序列相同,但空间结构不同。PrP^C 与 PrP^{Sc} 的主要区别见表 34-1。目前认为促使 PrP^C 转变为 PrP^{Sc} 的因素主要有:①外源性朊粒侵入,与体内 PrP^C 结合催化

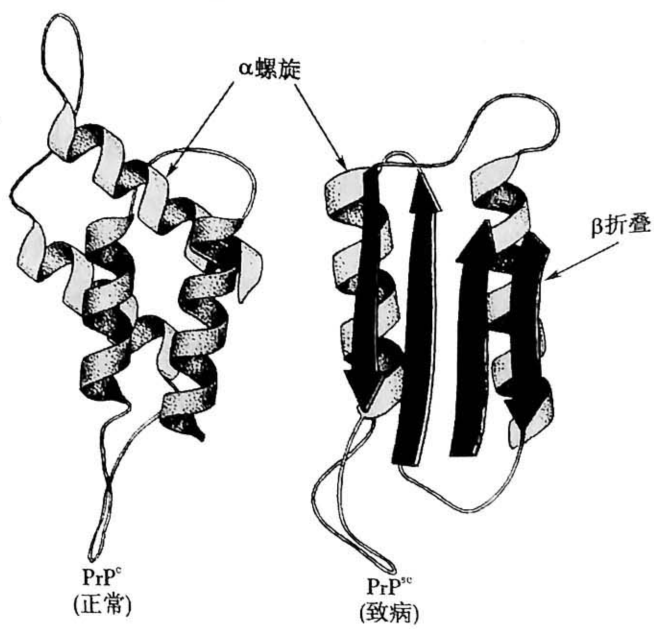


图 34-1　PrP^C 与 PrP^{Sc} 的三维结构模式图

笔记

其转变为 PrP^{Sc}，见于传染性朊粒病。②体内 PrP 基因突变使 PrP^{C} 结构失去稳定性，自发转变为 PrP^{Sc}，见于遗传性朊粒病。③自发性的 PrP^{C} 异常折叠形成 PrP^{Sc}。这种情况很少，可见于散发性朊粒病。

PrP^{C} 转变为 PrP^{Sc} 的确切机制目前尚未明了，存在"**模板学说**"和"**核聚集学说**"两种理论。

"模板学说"认为：在正常情况下，由于 PrP^{C} 结构的随机不稳定能产生一种部分变构的中间分子 PrP^{*}，PrP^{*} 是 PrP^{C} 向 PrP^{Sc} 转变反应的中间体，PrP^{*} 可重新回复为 PrP^{C}，也能进一步形成 PrP^{Sc}。正常状态下 PrP^{*} 产生量极少，大多在尚未转变为 PrP^{Sc} 之前就被降解，不会发生疾病。当外源性 PrP^{Sc} 侵入或者基因突变自发产生 PrP^{Sc} 时，PrP^{Sc} 可与 PrP^{C}（或 PrP^{*}）结合并作为模板促使其转变成以 β 折叠为主的 PrP^{Sc}，形成 PrP^{Sc} 同源二聚体（"X 蛋白"等分子伴侣参与此催化过程）。随后 PrP^{Sc} 同源二聚体（2 PrP^{Sc}）解离，新产生的两个 PrP^{Sc} 单体重新参与循环，并以指数方式增殖。PrP^{Sc} 难以被降解，一旦形成则不可逆转，最终 PrP^{Sc} 大量聚集并沉积于中枢神经系统的神经元中，引起神经元空泡变性等病变而造成海绵状脑病。

"核聚集学说"也称为"种子学说"，该学说认为朊粒以 PrP^{Sc} 的多聚体形式存在，PrP^{C} 可以自发地转变为 PrP^{Sc} 分子，然后加入到多聚体结构当中，或是在聚集时直接由 PrP^{Sc} 多聚体催化 PrP^{C} 转变为 PrP^{Sc}。已形成的 PrP^{Sc} 多聚体可作为种子，通过黏附其他单体分子，形成更大的聚集物。这些聚集物碎裂后形成的碎片又可作为新的种子，重复蛋白的聚集过程，从而产生更多的 PrP^{Sc} 聚集物，并在局部形成淀粉样蛋白沉积（表 34-1）。

表 34-1 PrP^{C} 与 PrP^{Sc} 的主要区别

	PrP^{C}	PrP^{Sc}
分子构象	α 螺旋占 42%，β 折叠仅占 3%	β 折叠占 43%，α 螺旋占 30%
对蛋白酶 K 的消化作用	敏感	抗性
在非变性去污剂中	可溶	不可溶
存在部位	正常及感染动物	感染动物
致病性	无	有致病性与传染性

朊粒对理化因素有**很强的抵抗力**，能抵抗蛋白酶 K 的消化作用；对热有很强的抗性，**标准的压力蒸汽灭菌（121.3℃，20 分钟）不能破坏朊粒**，需压力蒸汽灭菌 134℃、≥ 2 小时，才能使其失去传染性。朊粒对辐射、紫外线及常用消毒剂也有很强的抗性。**目前灭活朊粒的方法是：室温 20℃、用 1mol/L NaOH 溶液处理 1 小时后，再压力蒸汽灭菌 134℃，≥ 2 小时。**

朊粒可在某些来源于神经组织的细胞系中增殖，如鼠神经母细胞瘤细胞 Neuro2a、大鼠嗜铬细胞瘤细胞 PC12 等。近年已成功建立了猩猩、恒河猴、小鼠、地鼠、转基因鼠等动物感染模型，为朊粒病的研究奠定了基础。

二、致 病 性

朊粒病是一种人和动物的慢性退行性、致死性中枢神经系统疾病，即传染性海绵状脑病（TSE）。该疾病的共同特点：①潜伏期长，可达数年甚至数十年之久。②一旦发病呈亚急性、进行性发展，最终死亡；患者以痴呆、共济失调、震颤等中枢神经系统症状为主要临床表现。③病理学特征是脑皮质神经元空泡变性、死亡，星形胶质细胞增生，脑皮质疏松呈海绵状，并有淀粉样斑块形成，脑组织中无炎症反应。④朊粒的免疫原性低，不能诱导宿主产生特异性免疫应答。

主要的人类及动物朊粒病有 10 种（表 34-2）。

笔记

表 34-2 人类及动物 prion 病

人类 prion 病	动物 prion 病
库鲁病	羊瘙痒病
(Kuru disease)	(scrapie of sheep and goat)
克－雅病	水貂传染性脑病
(Creutzfeld–Jakob disease, CJD)	(transmissible mink encephalopathy, TME)
格斯特曼综合征	鹿慢性消瘦症
(Grestmann–Straussler syndrome, GSS)	(chronic wasting disease of deer, CWD)
致死性家族失眠征	牛海绵状脑病
(fatal familial insomnia, FFI)	(bovine spongiform encephalopathy, BSE)
变异型克－雅病	猫海绵状脑病
(variant CJD, vCJD)	(feline spongiform encephalopathy, FSE)

根据感染的来源不同，人类朊粒病可分为**传染性、遗传性和散发性**三种类型。传染性朊粒病是由于外源性朊粒感染所致，包括：库鲁病、医源性克－雅病、与疯牛病相关的变异型克－雅病。遗传性朊粒病与宿主本身的 PrP 基因突变有关，如家族性克－雅病、GSS 和 FFI。散发性朊粒病的机制尚不明确，如散发性克－雅病的发生可能与 PrP^{C} 自发性异常折叠有关。

主要的人类和动物朊粒病：

1. **羊瘙痒病**（scrapie of sheep and goat） 是最先被发现的动物传染性海绵状脑病，发生于绵羊和山羊。潜伏期一般 1~3 年，病羊以消瘦、步态不稳、脱毛、麻痹等为临床特征；因病羊瘙痒常在围栏上摩擦身体而得此病名。此病在羊群中流行病死率极高，在亚洲、欧洲和美洲均发现羊瘙痒病病例。

2. **牛海绵状脑病**（bovine spongiform encephalopathy, BSE） 是一种新现的动物传染性海绵状脑病。1986 年在英国首先报道，并蔓延到其他 12 个欧洲国家，美国、日本及加拿大等国也有个别报道。中国尚未发现有此病。该病潜伏期为 4~5 年，发病后期病牛出现明显的运动失调、震颤、恐惧、狂躁等症状，故俗称**疯牛病**（mad cow disease）。已证实，**疯牛病的病原体源于羊瘙痒病病羊内脏、肉骨粉制作的饲料**，PrP^{Sc} 致病因子借助此途径进入牛的食物链而导致感染发病，并在牛群中流行。1988 年 7 月英国政府立法禁止用反刍动物来源的蛋白质物质喂养牛等反刍动物，并屠杀病牛和疑似病牛，疯牛病的发病率已显著降低。

3. **库鲁病**（Kuru disease） 是一种古老的人类传染性海绵状脑病。此病仅发生于大洋洲巴布亚新几内亚高原 Fore 部落里的土著人中，由美国学者 Gajdusek 等于 1957 年首先报道。本病潜伏期长，数年甚至长达 30 年。临床表现早期以共济失调、颤抖等神经系统症状为主，故称 Kuru（当地土语 Kuru 为颤抖之意）；病情晚期患者多继发感染死亡。Gajdusek 等证明 Kuru 病的发生与原始的宗教祭祀仪式食尸有关，病原因子通过破损的皮肤、黏膜和胃肠道而传染。**杜绝食尸这一习俗后，Kuru 病也逐渐随之消失**。Gajdusek 等证明人类 Kuru 病与羊瘙痒病等属同种传染性疾病，因此荣获 1976 年诺贝尔生理学或医学奖。

4. **克－雅病**（Creutzfeld–Jakob disease, CJD） 此病是**人类最常见的传染性海绵状脑病**。由 Creutzfeld 和 Jakob 两位神经病理学家分别于 1920 年和 1921 年首先报道，故名为克－雅病。此病呈世界性分布，好发年龄多在 50~75 岁之间，发病率约为百万分之一。潜伏期约 10~15 年，也可长达 40 年以上。典型临床表现为进行性发展的痴呆、肌痉挛、小脑共济失调、运动性失语，并迅速发展为半瘫、癫痫，甚至昏迷。患者最终死于感染或中枢神经系统功能衰竭。其病理学改变与库鲁病相似。

笔 记

根据病因不同可将 CJD **分为散发性、家族性和医源性**三种类型。散发性 CJD 较常见，约占 CJD 的 85%，其病因不明，在散发性 CJD 患者中尚未鉴定出 PrP 基因的特殊突变。家族性 CJD 约占 15%，具有家族性常染色体的显性遗传，患者家族中均有 PrP 基因的突变。值得注意的是，CJD 患者的某些组织或器官中(尤其是神经、淋巴组织)含有朊粒，可污染医疗器械通过医源性途径传播。因此，医源性 CJD 与朊粒污染临床诊疗过程有关，如外科手术特别是神经外科手术器械灭菌不彻底、角膜或硬脑膜等器官移植或注射从人尸体垂体提取制备的生长激素与促性腺激素等。

5. 变异型克雅病(variant CJD，vCJD) 本病是 1996 年 3 月由英国 CJD 监测中心首先报道的一种**新现人类传染性海绵状脑病**。**vCJD 与典型 CJD 在易感年龄、临床症状与病程、脑电图、影像学以及病理学改变等方面均有明显不同**，故将该病称为变异型克雅病。

研究已证实人 **vCJD 的发生与疯牛病密切相关，与病牛接触或进食病牛肉是最主要的发病原因**。绝大多数患者发生于疯牛病高发区的英国，患者病变组织中 PrP^{Sc} 与疯牛病的 PrP^{Sc} 相同，患者脑组织的病理学改变亦与疯牛病相似。该病多发生于 18~40 岁的年轻人，潜伏期长(10~30 年)。主要症状为进行性精神异常的行为改变，运动失调、痴呆等。研究提示人 PrP 基因的 129 位密码子的多态性与人类对疯牛病致病因子的易感性有关，vCJD 患者大多数 129 位密码子为纯合子 Met(蛋氨酸)。疯牛病可跨越"种间屏障"传播与物种间 PrP 蛋白序列的相似性有一定关系。

另外，人类的朊粒病还包括较罕见的格斯特曼综合征(GSS)和致死性家族失眠症(FFI)。

三、微生物学检查法

朊粒病的临床诊断可根据流行病学、临床表现、脑组织神经病理检查以及脑脊液中生物标记物 14-3-3 蛋白的检测等，但此病的**确诊需依赖于病原学检查，即在脑组织中检出致病因子** PrP^{Sc}。

1. 免疫组化 是目前**确诊朊粒病最可靠的方法**。由于目前尚没有可区分 PrP^{C} 和 PrP^{Sc} 的特异性抗体，通常将脑组织或淋巴组织的病理切片先用高温甲酸处理以破坏 PrP^{C}，然后再用 PrP 单克隆抗体染色，可在组织切片中直接显示 PrP^{Sc}。

2. 免疫印迹 是目前**确诊朊粒病的常用方法**。脑组织等样本经匀浆后，用蛋白酶 K 处理破坏 PrP^{C}，电泳后转印至硝酸纤维膜，再用 PrP 单克隆抗体检测其中对蛋白酶 K 有抗性的 PrP^{Sc}。

3. ELISA 该方法快速、简便，适用于**大批量样品的筛查**，但可疑样品要进一步通过免疫组化或免疫印迹方法确诊。可采用两种 PrP 单抗的夹心法检测脑组织匀浆液或脑脊液中存在的 PrP^{Sc}。

4. 基因分析 用于协助**诊断遗传性朊粒病**。从疑似患者的外周血或组织中提取 DNA，PCR 扩增 PrP 基因，限制性酶切分析，再行等位特异性杂交或核苷酸序列分析，以确定其 PrP 基因型及其是否发生突变。

5. 蛋白质错误折叠循环扩增(protein misfolding cyclic amplification，PMCA) 该方法将待测样本与大量的 PrP^{C} 共孵育，若样本中存在 PrP^{Sc} 则可促使 PrP^{C} 错误折叠转变为 PrP^{Sc}，通过多个循环使样本中微量的 PrP^{Sc} 得到扩增，然后再用 Western blot 检测蛋白酶抗性的 PrP^{Sc}。PMCA **显著提高了检测灵敏度**，使血液等体液中 PrP^{Sc} 检测成为可能。

另外，近年开发的一种新型的"实时振荡诱变实验"(Real-time quaking-induced conversion assay)，能够更加快速和敏感地检测人血液和脑脊液中的微量 PrP^{Sc}，有望用于人类 CDJ 的早期诊断。

四、防治原则

笔记

朊粒病的防治已受到国际社会的极大关注，但迄今对朊粒病尚无疫苗可供免疫预防，也缺

乏有效药物治疗。目前主要是**针对该病的传播途径采取措施进行预防**。

1. 医源性朊粒病的预防　对患者的手术器械、血液、体液等污染物必须彻底灭菌，彻底销毁含病原因子的动物尸体、组织块或注射器等用品。常用的理化方法有：用 1mol/L NaOH 处理 1 小时以后，再高压灭菌 134℃，2 小时。对带有 PrP^{Sc} 的提取液、血液等要用 100g/L 漂白粉溶液或 5% 次氯酸钠处理 2 小时以上，使其失去传染性。严禁朊粒病患者及任何退行性中枢神经系统疾病患者捐献组织器官。医护人员及实验室研究人员应严格遵守安全操作规程，加强防范意识。

2. BSE 及 vCJD 的预防　禁止用牛、羊等动物的骨肉粉作为饲料添加剂喂养牛、羊等反刍动物，以防止病原因子进入食物链。对从有 BSE 的国家进口的活牛（包括胚胎）或者牛制品，必须严格地进行特殊检疫，加强监测工作，防止输入性感染。

（赵蔚明）

笔记

第三篇 真菌学

第三十五章 真菌学总论

真菌(fungus)是一大类真核细胞型微生物。细胞核高度分化，有核膜和核仁，胞浆内有完整的细胞器。细胞壁由几丁质、甘露聚糖、葡聚糖组成，不含叶绿素，不分化根、茎、叶。少数为单细胞、多数为多细胞结构。

真菌以腐生或寄生方式生存，按有性或无性方式繁殖。在自然界中分布广泛、种类繁多，目前已有**一万个属**、**十万余种**。其中绝大多数对人类有益，如酿酒、发酵、生产抗生素等；少数对人类有害，可引起人类及动、植物的疾病。

与医学有关的真菌达四百余种，常见的有50~100种，可引起人类感染性、中毒性及超敏反应性疾病。近年来，由于抗生素、抗肿瘤药物、免疫抑制剂等的使用，器官移植、介入性治疗技术的发展，艾滋病、糖尿病、恶性肿瘤等引起机体免疫功能低下等原因，导致真菌病的发病率呈明显上升趋势，已引起医学界的高度重视。

目前真菌在生物界的位置尚未统一。大多数学者认为真菌应作为一个独立界——真菌界分为黏菌、真菌两个门。真菌门分为**鞭毛菌亚门**(Mastigomycotina)、**接合菌亚门**(Zygomycotina)、**子囊菌亚门**(Ascomycotina)、**担子菌亚门**(Basidiomycotina)及**半知菌亚门**(Deuteromycotina, or Imperfect fungi)。与医学有关的真菌包括4个亚门：①接合菌亚门：绝大多数为无隔、多核菌丝体，属机会致病性真菌，如毛霉属(*Mucor*)、根霉属(*Rhizopus*)、根毛霉属(*Rhizomucor*)、犁头霉属(*Absidia*)等；②子囊菌亚门：具有子囊和子囊孢子，如芽生菌属(*Blastomyces*)、组织胞浆菌属(*Histoplasma*)、小孢子菌属(*Microsporum*)、毛癣菌属(*Trichophyton*)及酵母菌属(*Saccharomyces*)等；③担子菌亚门：具有担子和担孢子，如食用菌蘑菇、灵芝及机会致病性真菌隐球菌属(*Cryptococcus*)等；④半知菌亚门：对此类生活史了解不完全，未发现其有性阶段，故称为半知菌。在医学上有重要意义的真菌绝大部分在半知菌亚门中，如球孢子菌属(*Coccidiodes*)、假丝酵母菌属(*Candida*)、曲霉属(*Aspergillus*)、镰刀菌属(*Fusarium*)等。最新的分类法是把真菌界分为4个门，即接合菌门(Zygomycota)、子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidomycota)及壶菌门(Chytridiomycota)，而把属于半知菌亚门中的真菌划分到前3个门中，并取消了黏菌。

第一节 真菌的生物学性状

一、形态与结构

真菌的形态多样，大小不一，有典型的核结构和完整的细胞器，按形态、结构分为**单细胞**和**多细胞真菌**两大类。

(一) 单细胞真菌

呈圆形或椭圆形，如**酵母型**和**类酵母型真菌**。

笔记

1. **酵母型真菌** 不产生菌丝，由母细胞以**芽生**方式繁殖，其菌落与细菌的菌落相似。

2. **类酵母型真菌** 母细胞以**芽生**方式繁殖，出芽产生的芽生孢子持续延长，但不断裂、不与母细胞脱离，产生相互连接成藕节状较长的细胞链，可伸入培养基内，称**假菌丝**（pseudohypha）。其菌落与酵母型真菌相似，但在培养基内可见由假菌丝联结形成的**假菌丝体**，称为类酵母型菌落。

（二）多细胞真菌

由**菌丝**（hypha）和**孢子**（spore）两大基本结构组成。

1. **菌丝** 孢子生出嫩芽，称为**芽管**。芽管逐渐延长呈丝状，称为**菌丝**。菌丝在一定的间距形成**横隔**，称之为**隔膜**（septum）。隔膜将菌丝分成一连串的细胞，隔膜中央有孔，细胞质可自一个细胞流入另一个细胞。根据隔膜的消长，菌丝分为**有隔菌丝**（图 35-1A）与**无隔菌丝**（图 35-1B）。**绝大部分的病原性丝状真菌为有隔菌丝**，致病性接合菌多为无隔菌丝。菌丝可长出许多分枝，交织成团，称**菌丝体**（mycelium）。伸入到培养基内者称为**营养菌丝**（vegetative mycelium），露出于培养基表面者称为**气中（生）菌丝**（aerial mycelium）。部分气中菌丝可产生不同形状、大小和颜色的孢子，称为**生殖菌丝**（reproductive mycelium）。显微镜下菌丝的形态多样，如螺旋状、球拍状、结节状、鹿角状及破梳状等，可作为鉴别和分类的依据（图 35-2）。

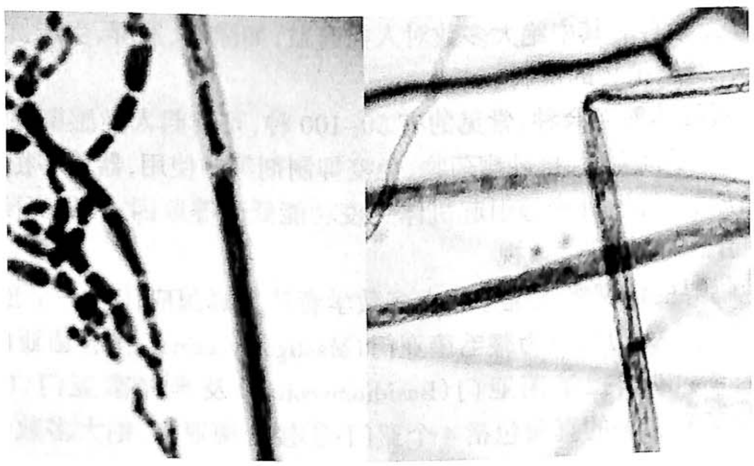


图 35-1 真菌菌丝（×400）
A 有隔菌丝；B 无隔菌丝



图 35-2 真菌的各种菌丝

笔记

2. 孢子　孢子是由生殖菌丝产生的圆形或卵圆形结构，是真菌的生殖结构。孢子也是真菌鉴定和分类的主要依据。

(1) 无性孢子：是指不经过两性细胞的配合而产生的孢子。病原性真菌大多数产生无性孢子。大体可分为 3 种：

1) **叶状孢子**(thallospore)：由菌丝细胞直接形成的生殖孢子。有 3 种类型：①**芽生孢子**(blastospore)：以发芽方式形成的圆形或卵形的孢子。许多真菌，如白假丝酵母菌、小球类酵母菌、圆酵母菌等皆可产生芽生孢子；芽生孢子长到一定大小即与母细胞脱离，若不脱离而相互连接成藕节状较长的细胞链称为假菌丝；②**关节孢子**(arthrospore)：是由菌丝细胞分化出现隔膜，且断裂成长方形的几个节段而成。胞壁稍增厚，多出现于陈旧培养物中；③**厚膜孢子**(chlamydospore)：亦称为厚壁孢子，由菌丝顶端或中间部分变圆，胞质浓缩，胞壁加厚而形成。是真菌的一种休眠细胞，在适宜的条件下可再发芽繁殖(图 35-3)。

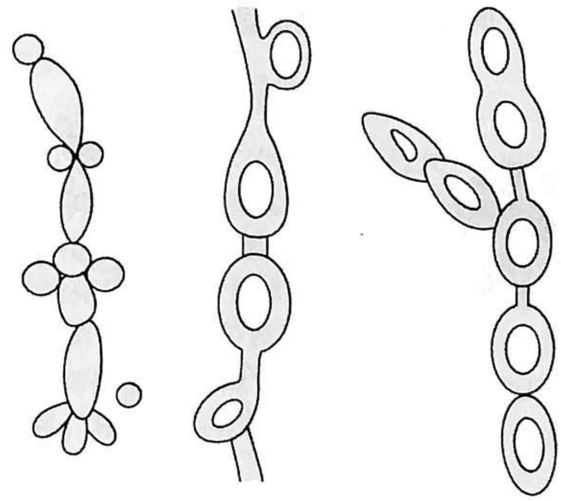


图 35-3　真菌的叶状孢子

2) **分生孢子**(conidium)：是真菌常见的一种无性孢子。其形状、大小、结构、颜色以及着生情况可作为鉴定、分类的依据。分生孢子生长在分生孢子梗(菌丝或其分枝分化的一种特殊结构)的顶端或侧面，分为：①**大分生孢子**(macroconidium)：体积较大，多细胞性。孢子呈纺锤形(称梭形孢子)，也可呈棍棒状(图 35-4)。②**小分生孢子**(microconidium)：体积小，单细胞性，外壁薄，有球形、卵形、梨形以及棍棒状等各种不同形状(图 35-5)。

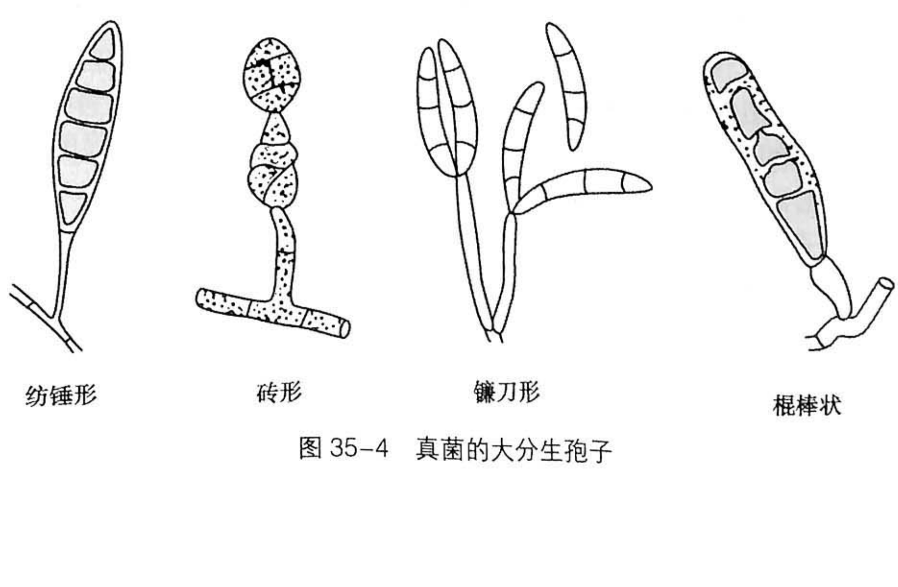


图 35-4　真菌的大分生孢子

笔记

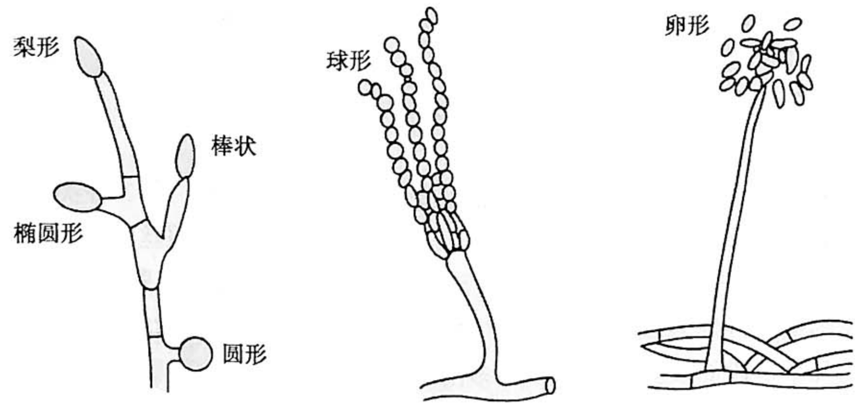


图 35-5 真菌的小分生孢子

3）**孢子囊孢子**（sporangiospore）：由菌丝末端形成一种囊状结构即孢子囊，内有许多孢子称为孢子囊孢子（图 35-6）。孢子成熟后破囊散出，如毛霉。

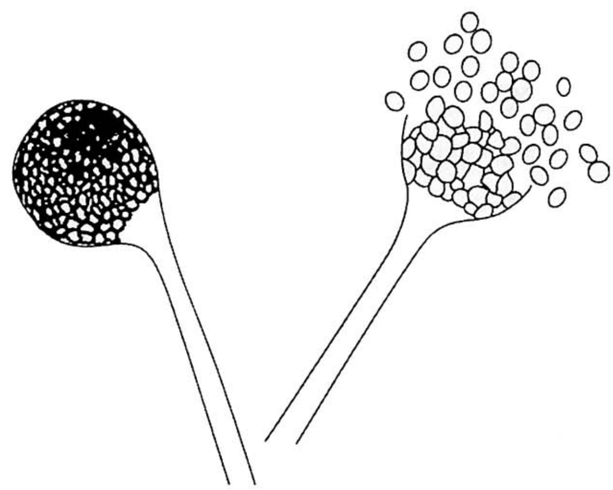


图 35-6 真菌子囊及子囊孢子

（2）有性孢子：有性孢子是由细胞间配合（质配和核配）后产生的孢子，有接合孢子、子囊孢子及担（子）孢子。有性孢子绝大多数为非致病性真菌所具有。

二、真菌的繁殖与培养

（一）真菌的繁殖方式

真菌繁殖方式包括有性繁殖和**无性繁殖两种**。**无性繁殖是真菌的主要繁殖方式**，主要形式有四种：

1. 芽生 从母细胞的细胞壁发芽，同时母细胞进行核分裂，一部分核进入子细胞，而后在母细胞和子细胞之间产生横膈，成熟后从母体脱离。常见于酵母型和类酵母型真菌。

2. 裂殖 细胞分裂产生子细胞，多发生在单细胞真菌中，如裂殖酵母菌。

3. 芽管 孢子出芽后产生芽管，芽管伸延后形成菌丝。

4. 隔殖 在分生孢子梗某一段落形成一隔膜，随之原生质浓缩而形成一个新的孢子。孢子可再独立繁殖。

（二）真菌的培养特性

真菌对营养要求不高，常用的培养基包括沙氏葡萄糖琼脂培养基（Sabouraud dextrose agar，SDA）、马铃薯葡萄糖琼脂培养基（potato dextrose agar，PDA）、察氏培养基（Czapek-Dox agar，CDA）、脑心浸膏琼脂培养基（brain-heart infusion agar，BHI）等。SDA 培养基的成分简单，主要含有蛋白

笔记

胨、葡萄糖、氯化钠和琼脂。真菌菌落及菌体形态在不同培养基中有很大差别。为了统一标准，鉴定时以 SDA 培养基上生长的真菌形态为准。**多数病原性真菌生长缓慢**，培养 1~4 周才出现典型菌落，故在培养基内常加入抗生素，抑制细菌的生长。**培养温度为 37℃（酵母型和类酵母型真菌）或 25~28℃（丝状真菌）。最适酸碱度为 pH 4.0~6.0。**

在 SDA 培养基上，真菌可形成 3 种不同类型的菌落：

1. **酵母型菌落**（yeast type colony）　是单细胞真菌的菌落形式。菌落柔软、致密、光滑、湿润。显微镜下观察可见芽生孢子，无菌丝。新型隐球菌（*Cryptococcus neoformans*）的菌落属于此型。

2. **类酵母型菌落，亦称酵母样菌落**（yeast-like type colony）　是单细胞真菌的菌落形式。外观上与酵母型菌落相似，但显微镜下可见呈藕节状细胞链的假菌丝，由菌落向下生长，伸入培养基中。白假丝酵母菌（*Candida albicans*）的菌落属此型。

3. **丝状型菌落**（filamentous type colony）　是多细胞真菌的菌落形式。由菌丝体和孢子所组成。菌落呈絮状、绒毛状或粉末状，菌落正面、背面可呈不同的颜色，其菌落的形态和颜色常作为真菌鉴定、分类的参考。见于大多数丝状真菌菌落。

三、变异性与抵抗力

真菌易发生变异。在人工培养基中多次传代或孵育过久，可出现形态、结构、菌落性状、色素以及各种生理性状（包括毒力）的改变。有些真菌可因环境条件（如不同成分的培养基和不同温度）的改变，发生两种形态的互变，称为**双相型真菌**（dimorphic fungi），即在宿主体内或 37℃培养时呈酵母型，而在 25℃培养时则呈菌丝型，如球孢子菌（*Coccidioides*）、组织胞浆菌（*Histoplasma*）、芽生菌（*Blastomyoes*）、孢子丝菌（*Sporothrix*）及马尔尼菲青霉（*Penicillium marneffei*）。真菌对热的抵抗力不强。**孢子不同于细菌芽胞，一般 60℃经 1 小时即被杀灭**。对干燥、阳光、紫外线及多种化学药物的耐受性较强。对 10~30g/L 苯酚、25g/L 碘酊、1g/L 升汞及 10% 甲醛溶液则比较敏感。

第二节　真菌的致病性与免疫性

一、致　病　性

（一）真菌感染

自然界存在的真菌种类很多，目前发现对人有致病性真菌和机会致病性真菌已超过百种。其中，由**致病性真菌**和**机会致病性真菌**引起感染，并表现临床症状者称为**真菌病**（mycoses）。同一种疾病可以由不同种真菌引起；一种真菌也可以引起不同类型的疾病。

致病性真菌包括球孢子菌、皮炎芽生菌（*Blastomyoes dermatitidis*）、组织胞浆菌及马尔尼菲青霉可引起**原发性感染**。但真菌感染多为继发性感染，由机会致病性真菌引起。特别是深部真菌感染多是由于各种诱因使机体免疫功能显著下降时发生。某些真菌如白假丝酵母菌、烟曲霉中可产生高分子的强毒素或低分子毒素。这些毒素也在致病中起到一定作用。另外，真菌的黏附能力、对免疫系统功能的抑制及胞壁中的酶类也与致病性有一定关系。

（二）真菌性超敏反应

按性质可分为：①**感染性超敏反应**：在真菌感染的基础上发生的超敏反应，属Ⅳ型超敏反应；②**接触性超敏反应**：即吸入或食入真菌孢子或菌丝而引起的超敏反应，属于Ⅰ~Ⅳ型超敏反应。

按部位分为：①**皮肤超敏反应**：主要表现有过敏性皮炎、湿疹、荨麻疹、瘙痒症等；②**呼吸道超敏反应**：主要是支气管哮喘及过敏性鼻炎。农民肺（farmer's lung）是由于吸入含真菌孢子的

笔记

霉草灰尘而引起的，以呼吸困难、咳嗽、发热、不适、发绀等为特征的一种综合病症；③**消化道超敏反应**：多由于食物中混入真菌所致。

(三) 真菌毒素中毒

真菌毒素是真菌在其代谢过程中产生的，可污染农作物、食物或饲料。人类多因食入而引起急、慢性中毒。真菌毒素中毒极易引起肝、肾、神经系统功能障碍以及造血功能损伤。另外，有些真菌的毒素与致癌有关。已证明**黄曲霉毒素**有致癌作用，与肝癌发生有关。除此之外，如棒状曲霉、烟曲霉、黑曲霉、红曲霉、棕曲霉、文氏曲霉以及杂色曲霉等，也可产生类似黄曲霉毒素的致癌物质。

二、免 疫 性

在真菌感染，特别是深部真菌感染过程中，人体**固有免疫**在抗感染中起到一定的作用，同时机体也可产生**特异性细胞免疫**和**体液免疫**。但一般说来，**免疫力不强**。

(一) 固有免疫

1. 皮肤黏膜屏障作用和正常菌群拮抗作用 健康的皮肤黏膜对皮肤癣菌具有一定**屏障作用**。如皮脂腺分泌的**不饱和脂肪酸**有杀真菌作用。儿童皮脂腺发育不完善，故易患头癣；成人掌跖部缺乏皮脂腺，且手、足汗较多，易促进真菌生长，因而手足癣较多见。

白假丝酵母菌是机体正常菌群，存在于口腔、肠道、阴道等部位，可起到拮抗作用。但长期应用广谱抗生素可导致菌群失调而引起继发性白假丝酵母菌感染。

2. 吞噬作用 真菌进入机体后易被单核巨噬细胞及中性粒细胞吞噬。**但被吞噬的真菌孢子并不能被完全杀灭**，可在细胞内增殖，刺激组织增生，引起细胞浸润形成肉芽肿；也可被吞噬细胞带到深部组织器官(如脑或内脏器官)中增殖而引起病变。

3. 其他 正常体液中的抗菌物质如 IFN-γ、TNF 等细胞因子在抗真菌感染方面也具有一定作用。

(二) 适应性免疫

真菌侵入机体，可刺激机体的免疫系统，产生适应性免疫应答。其中**以细胞免疫为主，同时可诱发迟发型超敏反应**。

1. 细胞免疫 真菌感染与细胞免疫有较密切的关系。研究表明，Th1 **反应**占优势的细胞免疫应答在抗深部真菌(如白假丝酵母菌、新型隐球菌)感染中起重要作用。Th1 **细胞产生** IFN-γ、IL-2 **等激活巨噬细胞，上调呼吸爆发作用，增强其对真菌的杀伤力**。CD_4^+ Th1 **还可诱发迟发型超敏反应，控制真菌感染的扩散**。AIDS、恶性肿瘤或应用免疫抑制剂者其 T 细胞功能受抑制，易并发播散性真菌感染。真菌感染一般不能形成稳固的病后免疫。

某些真菌感染后可发生迟发型皮肤超敏反应，如临床常见的癣菌疹。对真菌感染者进行皮肤试验，可用于诊断或流行病学调查。

2. 体液免疫 真菌是完全抗原，感染后可刺激机体产生相应抗体。**体液免疫对部分真菌感染有一定的保护作用**。抗体可通过调理作用，即阻止真菌转为菌丝相以提高吞噬细胞的吞噬率，及抑制真菌黏附宿主细胞起到抗真菌免疫的作用。如**抗**白假丝酵母菌**黏附素抗体**，能阻止白假丝酵母菌黏附于宿主细胞；抗新型隐球菌荚膜特异性 IgG 抗体有调理吞噬作用。**体液免疫产生的抗体可用于真菌感染的血清学诊断**。

第三节 真菌的微生物学检查法

(一) 标本的采集

笔记

浅部感染可取病变部位的鳞屑、病发或甲屑。深部感染真菌则取病变部位的痰、脓、血、尿、

便、脑脊液、胸腔积液及分泌物等。

标本采集时应注意：①标本应足量，如鳞屑、病发尽可能多留；血液、脑脊液至少 5ml，胸腔积液至少 20ml。② 标本应新鲜，并尽量在用药前采集，取材后立即送检，最长不得超过 2 小时。③严格无菌操作，避免污染。对痰、便等标本应重复检测，以排除污染或正常菌群的可能。④资料应齐全，需标注患者姓名、性别、年龄、临床诊断等相关信息。

（二）形态学检查

1. 直接镜检　黏稠或含角质的鳞屑、病发或甲屑标本，用 10% KOH（即 100g/L KOH）微加热处理后，直接镜检，如见到孢子或菌丝可初步诊断为癣菌病。血、尿、胸腔积液等稀薄标本，可离心后取沉渣涂片；痰、脓、便、分泌物等黏稠标本，可直接涂片，**革兰染色**后镜检，若发现有 G^+，大小、着色不均的卵圆形孢子，还有芽生孢子或假菌丝者，可初步诊断为假丝酵母菌感染；若发现有隔或无隔菌丝，伴有分枝者，可初步诊断为丝状真菌感染。怀疑隐球菌感染时，取脑脊液离心后沉渣做墨汁负染色观察，见有肥厚荚膜的酵母型菌体即可确诊。

2. 分离培养　直接镜检不能确定或需要鉴定感染真菌的种类时需进行真菌培养。一般常用含抗生素和放线菌酮（抑制细菌、放线菌的生长）的 SDA 或 PDA 培养基，培养温度以 25℃（丝状真菌）或 37℃（酵母型和类酵母型真菌）为宜。还可根据实际需要选用其他特殊培养基，如利用科玛嘉显色培养基分离、鉴定假丝酵母菌属的常见种。

对于酵母型和类酵母型真菌，经革兰染色后观察孢子、芽生孢子或假菌丝等形态进行鉴定；丝状真菌可进行小琼脂块培养后，经**乳酸酚棉蓝染色**后观察菌丝、孢子的结构特征，结合菌落形态特征作出鉴定。

（三）血清学检查

近年来，用于检测真菌抗原或代谢产物及机体感染后所产生抗体的血清学检查已用于深部真菌感染的实验室诊断。目前检测的抗原主要有 1，3-β-D-葡聚糖（G 试验）、甘露聚糖（EIA 法或免疫荧光碳氢化合物电泳 FACE）、半乳甘露聚糖（GM 试验）、隐球菌荚膜多糖（乳胶凝聚试验）；检测的抗体有甘露聚糖抗体（凝胶对流电泳）、烯醇化酶抗体（凝集试验）、马尔尼菲青霉抗体（ELISA 法）；检测的真菌代谢产物有 D-阿拉伯糖醇（酶荧光法）、烯醇化酶（斑点印迹法或荧光抗体染色法 DFA）。

（四）核酸检测

真菌学诊断除依据真菌形态结构等表型特征外，还可应用分子生物学技术检测核酸，包括核酸 G+C mol% 测定、PCR 相关技术（如巢氏 PCR、复合 PCR、荧光 PCR 等）、DNA 指纹技术（限制性长度多态分析 RFLP、变性梯度凝胶电泳 DGGE、单链构象多态性技术 SSCP 等）核酸杂交（原位杂交、反向斑点杂交 RDB、基因芯片技术等）、DNA 特殊序列分析（如真菌转录间隔区 ITS、核糖体大亚基 LSU、翻译延伸因子 TEF、线粒体细胞色素 b、细胞色素 c 氧化酶亚基 CO Ⅰ和 CO Ⅱ、β-微管蛋白等基因）等，可用于真菌的鉴定、分型。

第四节　真菌感染的防治原则

目前尚无有效预防皮肤癣菌感染的方法，主要是注意清洁卫生，保持鞋袜干燥、透气性好，并避免直接或间接与患者接触。治疗上，可局部使用特比萘芬喷剂或乳膏、酮康唑软膏、咪康唑霜或克霉唑溶液，但较难根治，易复发。

对深部真菌病的预防，主要应除去各种诱因，提高机体免疫力。尤其是细胞免疫功能低下的人群，或应用免疫抑制剂的患者，应注意防止并发真菌感染。常用的药物有唑类的氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑，多烯类的两性霉素 B，核苷类的 5-氟胞嘧啶，棘白菌素类的卡泊芬净、米卡芬净等。氟康唑在临床上最常用，对白假丝酵母菌治疗效果较好。伊曲康唑和伏立康唑具有抗

笔记

菌谱广，尤其对曲霉病疗效好，且毒副作用低的特点。两性霉素 B 由于副作用较大，且有效治疗剂量与中毒剂量接近，限制了其在临床的应用。棘白菌素类主要是用于对其他药物不耐受或产生耐药的真菌感染者。

预防真菌性食物中毒，应严禁销售和食用发霉的食品，加强市场管理及卫生宣传。

（王 丽）

第三十六章　主要病原性真菌

第一节　浅部感染真菌

浅部感染真菌是指寄生或腐生于**角蛋白组织**(表皮角质层、毛发、甲板)的真菌。它们一般不侵入皮下组织或内脏,故不引起全身感染,人类多因接触患者、患畜或染菌物体而被感染。浅部感染真菌可分为**皮肤癣菌**和**角层癣菌**两类。

一、皮 肤 癣 菌

皮肤癣菌(dermatophytes)是寄生于**皮肤角蛋白组织**的浅部真菌。引起的**皮肤癣**(tinea),是世界上感染最普遍的真菌病,以手足癣最为多见。皮肤癣菌有3个属,即**表皮癣菌属**(*Epidermophyton*)、**毛癣菌属**(*Trichophyton*)和**小孢子菌属**(*Microsporum*)(表36-1),大约有40余个种。根据菌落的形态、颜色及所产生的大、小分生孢子,可对其进行初步鉴定(图36-1)。

表36-1　皮肤癣菌的种类、侵犯部位及传染来源

真菌种类	种数	感染部位			传染源	
		皮肤	毛发	甲板	人	动物
表皮癣菌属	1	+	−	+	絮状表皮癣菌	无
小孢子菌属	15	+	+	−	奥杜安小孢子菌	犬小孢子菌 石膏样小孢子菌
毛癣菌属	20	+	+	+	石膏样毛癣菌 红色毛癣菌	石膏样毛癣菌

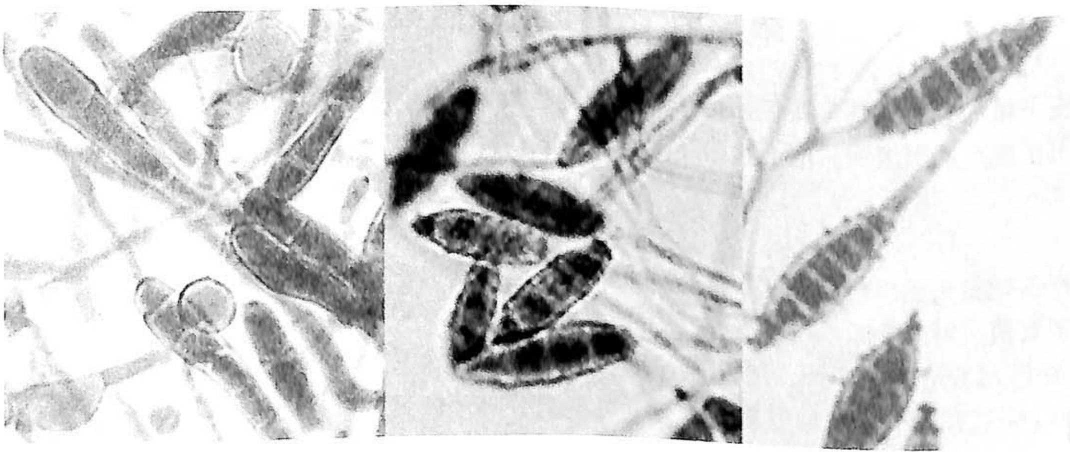


图36-1　表皮癣菌、毛癣菌和小孢子菌的孢子形态(×400,由左至右)

(一) 表皮癣菌属

本属只有1个种即**絮状表皮癣菌**(*E. floccosum*)对人类有致病作用。多发生于热带地区。可侵犯人类的皮肤和甲板,但不侵犯毛发。临床上可致体癣、足癣、手癣、股癣及甲癣等。

本菌在SDA培养基上室温或28℃生长较快,菌落最初呈蜡状,继而呈粉末状,由白色变成

笔记

黄绿色。镜检可见菌丝侧壁及顶端形成棍棒状大分生孢子，壁薄，由 3~5 个细胞组成。无小分生孢子。菌丝较细、有分隔，偶见球拍状、结节状或螺旋状菌丝。

（二）毛癣菌属

本属有 20 余种，其中 13 种对人类有致病性，可侵犯皮肤、毛发及甲板。本属的**石膏样毛癣菌**（*T. gypseum*，异名：须毛癣菌 *T. mentagrophytes*）、**红色毛癣菌**（*T. purpureatum*）及表皮癣菌属的**絮状表皮癣菌**在我国是侵犯表皮和甲板的 3 种常见皮肤癣菌。

不同菌种在 SDA 培养基上菌落性状和色泽各异，可呈颗粒状、粉末状及绒毛状等，颜色为白色、奶油色、黄色、红色、橙色及紫色等。镜下可见细长、薄壁、棒状、两端钝圆的大分生孢子以及侧生、散在或呈葡萄状的小分生孢子。

（三）小孢子菌属

本属有 15 个种，多半对人类有致病性，如**铁锈色小孢子菌**（*M. ferrugineum*）、**犬小孢子菌**（*M. canis*）及**石膏样小孢子菌**（*M. gypseum*）等，主要侵犯皮肤和毛发。直接镜检可见孢子及菌丝。SDA 培养基上菌落呈粉末状或绒毛状，灰色、棕黄色或橘红色，表面粗糙。镜检可见梭形、壁厚的大分生孢子，菌丝侧枝末端有卵圆形的小分生孢子。菌丝有隔，呈梳状、结节状或球拍状。

二、角层癣菌

角层癣菌是寄生于皮肤角层或毛干表面的浅部感染真菌，可引起角层型和毛发型病变。主要有**马拉色菌属**（*Malassezia*）、**何德毛结节菌**（*Piedraia hortae*）及**白吉利毛孢子菌**（*Trichosporon beigelii*）。

马拉色菌属常见的病原菌有秕糠马拉色菌（*M. furfur*）、球形马拉色菌（*M. globosa*）及限制性马拉色菌（*M. restricta*），可引起皮肤角质层慢性、无症状或症状轻微的浅表感染。表现为皮肤黄褐色的**花斑癣**，形如汗渍斑点，俗称**汗斑**。好发于颈、胸、腹、背和上臂，只有碍美观，不影响健康。患处标本直接镜检可见短粗、分枝状有隔菌丝以及成丛状的酵母样细胞。由于此菌具有嗜脂性特点，培养时需加入橄榄油等。通常为酵母型菌落。镜下可见球形或卵圆形的酵母形细胞，亦可见短粗、分枝状有隔菌丝。何德毛结节菌可引起毛发感染，形成硬的黑色结节，呈砂粒状。镜检可见棕色分隔菌丝和关节孢子，毛发结节内有子囊及子囊孢子。白吉利毛孢子菌也可引起毛发感染，在其周围形成白色小结节。镜检可见芽生孢子、厚壁孢子及关节孢子。

第二节 皮下组织感染真菌

皮下组织感染真菌主要包括**孢子丝菌**和**着色真菌**，**经外伤侵入皮下**，一般感染只限于局部，但也可扩散至周围组织。孢子丝菌经淋巴管扩散；着色真菌经血行或淋巴管扩散。

一、孢子丝菌

孢子丝菌为腐生性真菌，其中主要的病原菌是**申克孢子丝菌**（*Sporothrix schenckii*）。该菌为**双相型真菌**。用患者标本（脓、痰、血、病变组织）制片，油镜下观察可见梭形或圆形孢子。在 SDA 培养基上 25℃培养 3~5 天，可长出灰褐色皱膜状菌落；在含胱氨酸的血平板培养基上 37℃培养，则以芽生方式形成酵母型菌落。镜下可见有分隔菌丝及成群的梨形小分生孢子（图 36–2）。

人类通过有创伤的皮肤接触染菌土壤或植物引起感染。局部皮肤形成亚急性或慢性肉芽肿，使淋巴管出现链状硬结，称为**孢子丝菌性下疳**（sporotrichotic chancre）。亦可经口或呼吸道侵入，沿血行扩散至其他器官。我国大部分地区皆有感染，以东北地区为多见。

以申克孢子丝菌制备的抗原与患者血清作凝集试验，效价 ≥ 1 ∶ 320 则有诊断意义。亦可用**孢子丝菌素**（sporotricin）作皮肤试验，若 24~48 小时在局部出现结节，可辅助临床诊断。

孢子丝菌病在某些患者可以是自限性疾病。治疗可口服饱和碘化钾溶液或伊曲康唑。若引起深部感染，可用两性霉素 B 治疗。

笔记

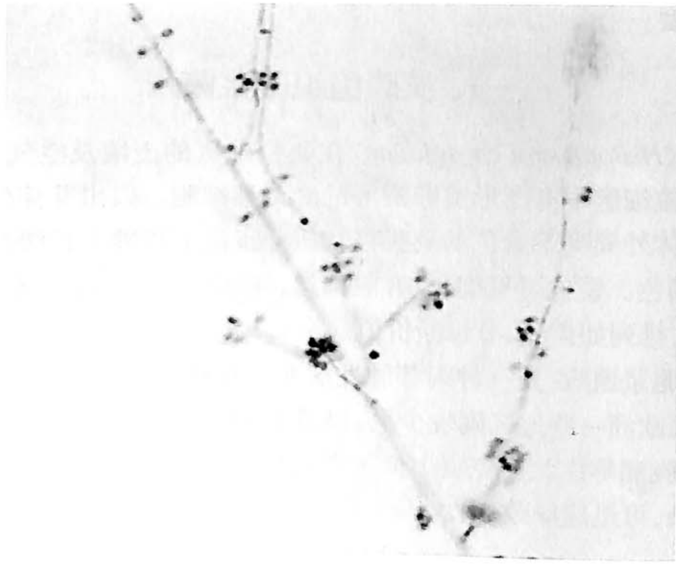


图 36-2　申克孢子丝菌小分生孢子（×400）

二、着 色 真 菌

着色真菌是分类上相近、引起的临床症状也相似的一些真菌的总称。多为腐生菌，广泛存在于土壤及植物中。代表菌有**裴氏丰萨卡菌**（*Fonsecaea pedrosoi*）、**卡氏枝孢霉**（*Cladosporium carrionii*）、**疣状瓶霉**（*Phialophora verrucosa*）、**甄氏外瓶霉**（*Exophiala jeanselmei*）、**链格孢霉**（*Alternaria alternata*）等。**一般由外伤侵入人体**，感染多发于颜面、下肢及臀部等暴露部位，病损皮肤呈境界鲜明的暗红色或黑色区，故称**着色真菌病**（chromomycosis）。亦可侵犯深部组织，呈慢性感染过程。在机体全身免疫功能低下时可侵犯中枢神经系统，发生脑内感染。

本菌在组织中为厚壁、圆形细胞。培养基上生长缓慢，菌落呈暗棕色。镜检可见棕色有隔菌丝，在分枝、侧面或顶端形成分生孢子梗，梗上产生棕色圆形、椭圆形的分生孢子。分生孢子和分生孢子梗有树枝形、剑顶形、花瓶形等不同形状，是鉴定本菌的重要依据（图 36-3）。由于其多态性，给形态学鉴定带来很大的困难。近年来，二次代谢产物、分子生物学等方法已被用于此类真菌的鉴定、诊断。



图 36-3　疣状瓶霉、卡氏枝孢霉及链格孢霉的分生孢子（×400）

第三节　地方性流行真菌

这些真菌均属**双相型真菌**，对环境温度敏感。一般在宿主体内或 37℃培养时呈酵母型，在

25℃培养时变为菌丝型。

一、荚膜组织胞浆菌

荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma capsulatum*)在流行地区的土壤及空气中都可分离出。镜检可见单核细胞或中性粒细胞中有圆形或卵圆形的酵母型细胞。以出芽芽生方式繁殖,四周有不着色的荚膜样物质菌体外周有不着色的荚膜样物质。室温下培养生长缓慢,形成白色棉絮样菌落,逐渐从黄色转为褐色。镜检可见细长、有隔菌丝,侧面或孢子柄上长有特殊的圆形大分生孢子,厚壁,四周有棘突,排列如齿轮,有诊断价值。

该菌可引起组织胞浆菌病,是一种肉芽肿性病变。在热带、亚热带和温带地区发病率较高,大多数发生在美国,而欧洲一些地区则较少见。人类和动物吸入带菌尘埃可引起急性肺部感染,突然发生高热、气急、胸痛等症状。免疫力低下者也可以成人播散性感染,有严重症状和肝脾肿大;或儿童暴发性感染,可迅速导致死亡。

二、厌酷球孢子菌

厌酷球孢子菌(*Coccidioides immites*)生长迅速,菌落开始为白色,后变为棕黄色棉絮样。镜检可见有较大的厚壁球孢子,内含许多内生孢子,厚壁破裂后逸出。

该菌引起的球孢子菌病,是美国西南部的地方性流行病,南美洲也有发生。人类和动物常通过吸入含孢子的尘埃,引起急性呼吸器官原发性感染,以肺部感染最常见,症状轻、病程短、常可自愈。偶可播散至皮肤、淋巴结、脑、肝、肾、骨骼等组织形成局部慢性肉芽肿性病变,症状重、预后不佳。

三、皮炎芽生菌和巴西副球孢子菌

皮炎芽生菌(*Blastomyces dermatitides*)和**巴西副球孢子菌**(*Paracoccidioides brasiliensis*)在镜下均可见酵母型细胞,均以芽生方式繁殖。二者的区别在于皮炎芽生菌每个细胞仅出一个芽,而巴西副球孢子菌每个细胞上可有多个芽。

皮炎芽生菌引起的感染又称北美芽生菌病,是一种以肺、皮肤及骨骼为主的慢性化脓性肉芽肿性病变。主要流行于北美洲的美国和加拿大,在英国和墨西哥等地也有少数散发,患者以往都有居住在美国或接触过该菌污染物的历史。该菌可寄生于土壤、潮湿及含有机物的物质上,人类吸入孢子后可引起原发性肺皮炎芽生菌病、皮肤型及播散型皮炎芽生菌病。

巴西副球孢子菌引起的感染又称南美(巴西)芽生菌病或副球孢子菌肉芽肿,是一种侵犯黏膜、皮肤、肺及淋巴系统的慢性化脓性肉芽肿性疾病。主要流行于中南美洲,特别是多见于巴西、阿根廷、秘鲁及委内瑞拉,而中国尚未见报告。人体可通过吸入孢子引起原发性肺部感染,即肺型副球孢子菌病;如发生在口腔、鼻腔、眼结膜及肛周,可直接感染或经淋巴、血行播散,皮损呈肉芽肿或溃疡,即皮肤黏膜淋巴管型副球孢子菌病;如播散至肝、脾、小肠、泌尿生殖系统、中枢神经系统及骨骼等组织器官引起肉芽肿和化脓性结节,即播散型副球孢子菌病。

四、马尔尼菲青霉

马尔尼菲青霉(*Penicillium marneffei*)是青霉属中唯一呈双相型的机会致病菌。在25℃培养时,生长较快。菌落由最初的淡黄色绒毛状变为棕红色,有皱褶,可产生玫瑰红色色素。镜下可见有隔菌丝,分生孢子梗光滑,帚状枝分散,双轮生,稍不对称,瓶梗顶端变窄,分生孢子球形,呈链状排列(图36-4)。37℃酵母型可见圆形或长方形的关节孢子。

笔记

该菌引起的马尔尼菲青霉病,是一种广泛性、播散性感染,常累及肺、肝、皮肤、淋巴结等多种组织和器官。该病好发于东南亚地区,我国广西、广东等地均有报道。可发生于健康者,但更



图 36-4　马尔尼菲青霉帚状枝(×400)

多见于免疫缺陷或免疫功能低下者，随着艾滋病患者的增多，该病的报道也在逐年增加。

第四节　机会致病性真菌

侵犯表皮及其附属器以外的组织和器官的病原性真菌或机会致病性真菌称为深部感染真菌。近年来，由于抗生素、皮质类固醇激素、免疫抑制剂及抗肿瘤药物的广泛应用，器官移植、介入性治疗的开展，恶性肿瘤、艾滋病、糖尿病及人口老龄化等原因，导致深部真菌感染发病率日益增加。

一、白假丝酵母菌

假丝酵母菌属(*Candida*)中有 81 个种，其中 10 个种有致病性。**白假丝酵母菌**(*C. albicans*)是本属最常见的致病菌，可引起皮肤、黏膜和内脏的急、慢性感染，即**假丝酵母菌病**(candidiasis)。

(一) 生物学特征

菌体呈圆形或卵圆形，直径 3~6μm，**革兰染色阳性**，以芽生方式繁殖(图 36-5)。在组织内易形成**芽生孢子**及**假菌丝**。培养后在假菌丝中间或顶端常有较大、壁薄的圆形或梨形细胞，称为**厚膜孢子**，是本菌特征之一(图 36-6)。

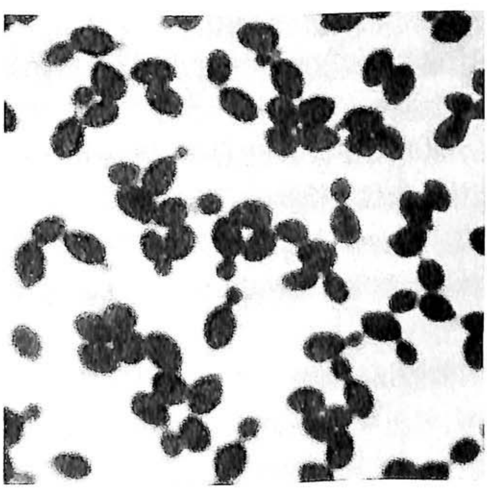


图 36-5　白假丝酵母菌的孢子(×1000)

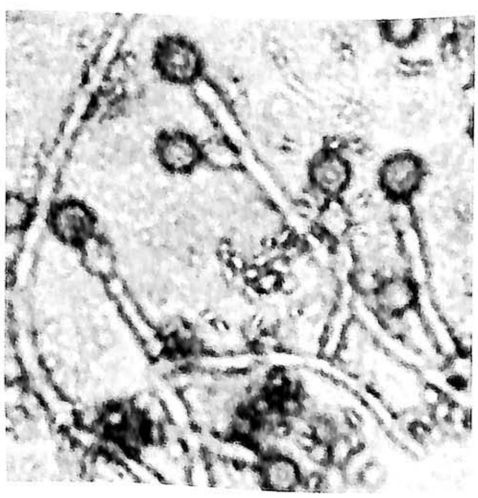


图 36-6　白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子(组织内，×400)

笔记

在普通琼脂、血琼脂及 SDA 琼脂培养基上均生长良好。37℃培养 2~3 天后，出现灰白或奶油色、表面光滑、带有浓厚酵母气味的典型的**类酵母型菌落**。培养稍久，菌落增大，颜色变深，质地变硬或有皱褶。血琼脂 37℃培养 10 天，可形成中等大小暗灰色菌落。在含 1%吐温 -80 的**玉米粉琼脂培养基**上可形成丰富的假菌丝，同时也产生真菌丝和厚膜孢子。

（二）致病性

白假丝酵母菌为机会致病菌，通常存在于人的皮肤、口腔、上呼吸道、阴道及肠道黏膜，当机体出现菌群失调或抵抗力下降时（如 AIDS），可引起各种假丝酵母菌病。

1. 皮肤、黏膜感染 皮肤白假丝酵母菌感染好发于皮肤潮湿、皱褶部位，可引起湿疹样皮肤白假丝酵母菌病、肛门周围瘙痒症及肛门周围湿疹和指间糜烂症等，易与湿疹混淆。黏膜感染则有**鹅口疮**（thrush）、口角糜烂、外阴与阴道炎等。其中以鹅口疮最为多见。

2. 内脏感染 包括肺炎、支气管炎、肠炎、膀胱炎及肾盂肾炎等，偶尔也可引起败血症。

3. 中枢神经系统感染 可有脑膜炎、脑膜脑炎及脑脓肿等。多由原发病灶转移而来。

（三）微生物学检查法

1. 直接镜检 脓、痰标本可直接涂片、革兰染色后镜检。如为皮屑或甲屑可用 10% KOH 消化后镜检。可见圆形或卵形的菌体及芽生孢子，尚可观察到假菌丝。**观察到出芽的酵母型细胞与假菌丝，方可确定位白假丝酵母菌感染**。

2. 分离培养 将标本接种于 SDA 培养基中分离培养，25℃ 1~4 天，在培养基表面形成乳白色（偶见淡黄色）类酵母型菌落。镜检可见假菌丝及成群的卵圆形芽生孢子。

3. 鉴定 假丝酵母菌种类繁多，可根据形态结构、培养特性及生化反应等进行鉴别（表 36–2）。

表 36–2 4 种病原性假丝酵母菌的鉴别要点

菌种	芽管形成试验	厚膜孢子形成试验	沙氏肉汤培养基菌膜形成	糖发酵试验			
				葡萄糖	麦芽糖	蔗糖	乳糖
白假丝酵母菌（*C. albicans*）	+	+	–	+	+	+	–
热带假丝酵母菌（*C. tropicalis*）	–	±	+	+	+	+	–
近平滑假丝酵母菌（*C. parapsilokis*）	–	–	–	+	+	+	–
克柔假丝酵母菌（*C. krusei*）	–	–	+	+	–	–	–

（1）芽管形成试验：将该菌接种于 0.5~1.0ml 正常人血清或羊血清中，37℃、1.5~4 小时，镜检可见芽生孢子及芽管形成。

（2）厚膜孢子形成试验：在 1% 吐温 -80 玉米粉培养基中，25℃，24~48 小时后，在菌丝顶端、侧缘或中间可见厚膜孢子。

（3）动物试验：将该菌感染免疫抑制小鼠，观察小鼠的生存状态、生存率，观察肝、脾、肺、肾、淋巴结等组织器官的变化，判断其致病性，并可进行涂片染色镜检或分离培养鉴定。

对于白假丝酵母菌感染的诊断，微生物学检查必须结合临床才能确定。若新鲜标本涂片镜检只见到酵母细胞而未见假菌丝，则可能只是腐生性假丝酵母菌的污染。

（四）防治原则

目前对**假丝酵母菌病**的高危人群尚未建立起有效的预防措施。治疗白假丝酵母菌感染常用氟康唑，效果较好。

二、新型隐球菌

笔记

新型隐球菌（*Cryptococcus neoformans*）属于**隐球菌属**（*Cryptococcus*）。该属种类较多。新

型隐球菌在自然界分布广泛，可在土壤，鸟粪，**尤其是鸽粪中大量存在**，也可存在于人体的体表、口腔及粪便中。

（一）生物学特征

菌体为圆形的酵母样细胞，直径为 4~12μm。菌体外周有一层肥厚的胶质样**荚膜**，比菌体可大 1~3 倍。用**墨汁负染色**后镜检，可在黑色的背景中见到圆形或卵圆形的透亮菌体（图 36-7）。本菌以**芽生**方式繁殖，**常呈单芽**，有时也可出现多芽。芽颈较细，但不产生假菌丝。

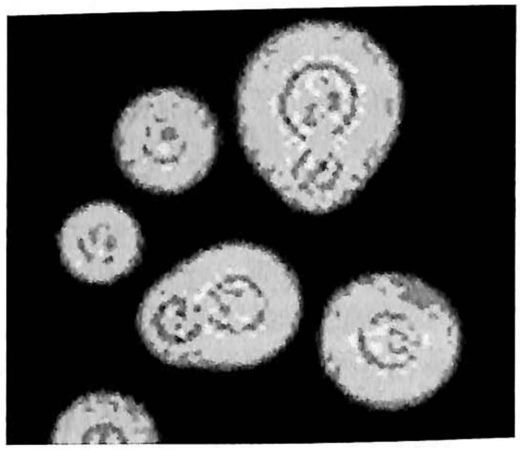


图 36-7　新型隐球菌的酵母样细胞（×1000）

在 SDA 或血琼脂培养基上，25℃和 37℃下均生长良好。数天后形成酵母型菌落，初为乳白色细小菌落，增大后表面黏稠、光滑，后转变为橘黄色，最后变成棕褐色。在麦芽汁液体培养基中，25℃孵育 3 天后呈混浊生长，可有少量沉淀或菌膜。

新型隐球菌荚膜由多糖构成，根据其抗原性可分为 A、B、C、D 4 个血清型。临床分离株多属于 A 与 D 型。

（二）致病性

新型隐球菌的**荚膜多糖**是重要的致病物质，有抑制吞噬、诱使动物免疫无反应性、降低机体抵抗力等作用。

该菌可侵犯人和动物引起**隐球菌病**（cryptococcosis）。多数引起**外源性感染**，也可引起**内源性感染**。对人类而言，它是**机会致病菌**。由呼吸道吸入后引起感染，初始感染灶多为肺部。肺部感染一般预后良好。但从肺部可以播散至全身其他部位。播散病灶可发生在各个脏器，皮肤、黏膜、淋巴结、骨、内脏等均可受累，最易侵犯的是中枢神经系统，引起**慢性脑膜炎**。中枢神经系统的隐球菌病预后不良，如不治疗，常导致患者死亡。

（三）微生物学检查法

1. 直接镜检　痰、脓、离心沉淀后的脑脊液沉渣标本加墨汁作负染色镜检。**见到圆形或卵圆形的有折光性的菌体，外周有一圈透明的肥厚荚膜即可确诊。**

2. 分离培养　将检材接种于 SDA 培养基，室温或 37℃培养 2~5 天后形成乳白色、不规则的酵母型菌落，表面有蜡样光泽。继续培养则菌落增厚，颜色由乳白、奶油色转变为橘黄色。镜检可见圆形或卵圆形菌体，无假菌丝。

3. 其他检查法　检查**尿素酶**可鉴定该菌。另外，由于该菌具有**酚氧化酶**，可在细胞壁中产生黑素，所以亦可在含有二酚底物的培养基上培养，菌落成褐色。还可用胶乳凝集试验检查患者血清和脑脊液中的新型隐球菌**荚膜抗原**。隐球菌性脑膜炎的患者阳性率可达 90%，在治疗收效后抗原滴度下降。艾滋病患者的高抗原滴度可持续很长时间。

（四）防治原则

鸟粪是动物和人类的主要传染源。减少鸽子数量，或用碱处理鸽粪，可控制此病的发生。治疗肺部或皮肤病变，用 5- 氟胞嘧啶、酮康唑、伊曲康唑有效。中枢神经系统隐球菌病可选用两性霉素 B 静脉滴注或伊曲康唑口服，必要时加用鞘内注射。

三、曲　霉

曲霉（*Aspergillus*）广泛分布于自然界，种类繁多，可达 800 余种。少数属于机会致病菌，主要有**烟曲霉**（*A. fumigatus*）、**黄曲霉**（*A. flavus*）、构巢曲霉（*A. nidulans*）、黑曲霉（*A. niger*）及土曲霉（*A. terreus*）5 种，其中**烟曲霉感染**最常见（表 36-3）。

笔记

表 36-3 5 种主要致病性曲霉比较

曲霉	菌落	顶囊	小梗	孢子
烟曲霉	绿 / 深绿色	烧瓶状	单层，顶囊上半部	球形，有小棘，绿色，成链排列
黄曲霉	黄色	球形或近球形	双层，第一层长，布满顶囊表面，放射状	球形或梨形，有小棘，成链排列
构巢曲霉	绿色或暗绿色	半球形	双层，第一层略长，顶囊的上半，放射状	球形，绿色，成链排列
黑曲霉	黑色	球形或近球形	双层，第一层长，布满顶囊表面，放射状	球形，黑褐色，有小棘，成链排列
土曲霉	淡褐色或褐色	半球形	双层，第一层短，顶囊的 2/3，放射状	球形，小，表面平滑，成链排列

（一）生物学特征

曲霉菌丝为分枝状多细胞性有隔菌丝。接触到培养基的菌丝部分可分化出厚壁而膨大的足细胞，并向上生长出直立的分生孢子梗；孢子梗顶端膨大形成半球形或椭圆形的顶囊；在顶囊上以辐射方式长出一、二层杆状小梗；小梗顶端再形成一串分生孢子（图 36-8）。分生孢子有黄、绿、棕、黑等不同颜色，呈球形或柱状。上述结果形成一个菊花样的头状结构，称为分生孢子头。



图 36-8 曲霉分生孢子头（×400）

该菌在 SDA 培养基上发育良好，在室温或 37~45℃均能生长。菌落开始为白色、柔软有光泽，逐渐形成绒毛状、粉末状或絮状丝状菌落。由于产生分生孢子而形成该菌固有的颜色。烟曲霉在 25℃培养 3 天后，菌落直径可达 3~5cm，由青绿色变成暗青色。

（二）致病性

曲霉能侵犯机体许多部位，统称为**曲霉病**（aspergillosis）。所致疾病有直接感染、超敏反应及曲霉毒素中毒等类型。

1. 肺曲霉病

1）真菌球型肺曲霉病（aspergilloma or fungus ball）：又称局限性肺曲霉病。是在器官早已有空腔存在的基础上发生，如结核空洞、鼻旁窦或扩张的支气管。此时，曲霉不侵犯组织，不播散。这种病例应着重治疗原有的疾病。

2）肺炎型曲霉病：曲霉在肺内播散，引起坏死性肺炎或咯血，并可播散到其他器官。本病常见于免疫缺损或免疫受抑制的患者。

3）过敏性支气管肺曲霉病：是一种超敏反应性疾病。

2. 全身性曲霉病 原发病灶主要在肺，少见于消化道，多数是由败血症引起的全身性感染。本病多发生在某些重症疾病的晚期。

3. 中毒与致癌 有些曲霉产生的毒素，可引起人或动物急、慢性中毒，损伤肝、肾、神经等组织器官。特别是黄曲霉毒素与人类肝癌的发生有密切关系。

（三）微生物学检查

1. 直接镜检 痰、支气管肺泡盥洗或窦道穿刺标本直接涂片镜检，可见 45° 分枝、分隔菌丝，若寄生在与空气相通器官中，标本直接镜检还可见分生孢子头，可初步判定为曲霉感染。

笔记

2. 分离培养　将检材接种于SDA培养基，25℃培养3~5天，观察生长速度、菌落颜色、表面质地等特征。并进行小琼脂块培养，乳酸酚棉蓝染色后，镜检观察菌丝体形态、顶囊形态、小梗结构与数目、分生孢子形态与颜色等特征，结合菌落特征进行鉴定。

3. 其他检查法　半乳甘露聚糖(GM)抗原是曲霉细胞壁上的一种多糖抗原，利用ELISA法检测患者血清中的GM抗原(即GM试验)可用来诊断曲霉感染。这种血清学检测方法敏感性和特异性较高，已在欧洲被广泛应用。目前探讨的曲霉分子生物学鉴定技术包括特异性PCR、复合PCR、real-time PCR、微卫星指纹图谱、PCR-反向微孔板杂交等，但尚无统一标准。欧洲曲霉诊断计划(EAPCRI)是由欧洲60余所研究中心共同开发的一种标准化的烟曲霉样品处理、real-time PCR检测方法，以其用于临床曲霉病的诊断。

(四) 防治原则

目前曲霉病的治疗包括抗真菌药物及外科局部病灶切除，另外进行免疫调节辅助治疗。唑类药物伊曲康唑、伏立康唑，多烯类药物两性霉素B，以及棘白菌素类药物卡泊芬净及米卡芬净对曲霉均有抗菌活性。近年来，常使用唑类与棘白菌素类药物联合治疗，以降低病死率。对于免疫缺陷或功能低下的高危患者，应进行预防性抗真菌治疗，可选择两性霉素B或伊曲康唑雾化吸入，预防效果较好。

四、镰　刀　菌

镰刀菌(*Fusarium*)在自然界分布广泛，多腐生于植物，极易污染各种粮食。常见的有茄病镰刀菌(*F. solani*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)、串珠镰刀菌(*F. moniliforme*)等。常可引起一些浅部真菌病，如真菌性角膜炎、爪真菌病。还可引起深部真菌感染，多从鼻窦、呼吸道及皮肤入侵，感染肺、肝、脾、肾等其他器官。



图36-9　镰刀菌的大分生孢子(×400)

在SDA培养基上，25℃培养时，生长迅速，菌落呈棉絮状，可产生浅黄、浅紫、玫瑰红色等色素。大分生孢子两头尖、中央弯曲，呈镰刀形，有分隔，为多细胞性(图36-9)；小分生孢子卵圆形或棒状，散在或假头状着生，多为单细胞性。

微生物学检查可取皮屑、甲屑、脓、角膜刮片等标本，滴加10% KOH直接镜检，可见分枝、有隔菌丝。用SDA培养基培养后，镜检可见有隔菌丝及形态多样的大、小分生孢子。

治疗该菌感染时多采取局部手术清除病灶，并结合药物治疗，如纳他霉素、伊曲康唑、伏立康唑及特比萘芬等。

五、毛　　霉

毛霉(*Mucor*)属于接合菌亚门，广泛存在于自然环境中，常引起食物霉变。毛霉引起的感染称**毛霉病**(mucormycosis)，通常发生于重症疾病患者的晚期，机体抵抗力极度衰弱时合并本菌感染。

在SDA培养基上，25℃培养时，生长迅速，形成丝状菌落，开始为白色，逐渐转变为灰黑色或黑色。镜下可见无隔菌丝，且分枝成直角。从菌丝上生长出长短不等的孢子囊梗，其上生长着球形孢子囊，孢子囊内充满着大量孢子囊孢子，成熟后孢子囊孢子破囊而出(图36-10)。

笔记

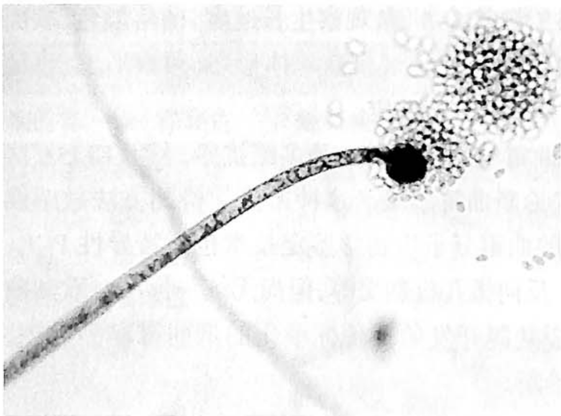


图 36-10 毛霉孢子囊及孢子囊孢子（×400）

毛霉感染多首先发生在鼻或耳部，经口腔唾液流入上颌窦和眼眶，引起坏死性炎症和肉芽肿，再经血流侵入脑部，引起脑膜炎。亦可扩散至肺、胃肠道等全身各器官。由于本病发病急、病情进展迅速、诊断困难，故死亡率较高。

微生物学检查取痰、活检或尸检标本，滴加 10% KOH 直接镜检，见宽大、不规则、分枝状的无隔菌丝。菌丝呈明显嗜苏木精染色，在 HE 染色中非常清晰。用 SDA 培养基培养后，镜检可发现无隔菌丝和孢子囊孢子。该病生前诊断困难，多通过尸检病理诊断确诊。

本菌引起的疾病无特效治疗方法，可早期应用两性霉素 B、外科切除病灶及积极治疗相关疾病。

六、肺孢子菌

肺孢子菌（*Pneumocystis*）分布于自然界、人和多种哺乳动物肺内，常见的有**卡氏肺孢子菌**（*P. carinii*）和**伊氏肺孢子菌**（*P. jiroveci*）。该菌曾被称为肺孢子虫，因其具有原生动物的生活史及虫体形态而被归于原虫。近年发现肺孢子菌的超微结构以及基因和编码的蛋白均与真菌相似，故将其归属于真菌。

该菌为单细胞型，兼具原虫及酵母菌的特点。发育过程经历几个阶段：滋养体，包括小滋养体（圆形，含 1 个核）和大滋养体（不规则形，含 1 个核）；囊前期（近圆形或卵圆形，囊壁较薄）；孢子囊（圆形，含 2~8 个孢子），成熟后破裂释放出孢子。

肺孢子菌经呼吸道吸入肺内，多为**隐性感染**。对于免疫缺陷或免疫功能低下者，可引起机会感染，即**肺孢子菌肺炎**（pneumocystis pneumonia，PCP）。近年来已成为艾滋病患者常见的并发症，美国约有 90% 的艾滋病患者合并该病。发病初期为**间质性肺炎**，病情迅速发展，重症患者因窒息在 2~6 周内死亡。该菌也可引起中耳炎、肝炎、结肠炎等。

该菌可从痰或支气管灌洗液中经革兰或美蓝染色检出。亦可用 ELISA、免疫荧光技术、补体结合试验等检查血清中的特异性抗体，进行辅助诊断。

该菌引起的感染无有效预防方法，患者应进行隔离。长期大量应用免疫抑制剂者应警惕。治疗时可选择复方磺胺甲噁唑、羟乙基磺酸烷脒及棘球白素类抗菌药如卡泊芬净。

（王　丽）

笔记

附　录

病原微生物实验室生物安全

生物安全(biosafety)是指生物因子(天然的动物、植物和微生物,以及基因改造和转基因生物等)对社会、经济、人类健康及生物多样性和生态环境所产生的危害或潜在威胁(风险)。医学微生物学领域中涉及生物安全的主要方面是:病原微生物实验室的生物安全及生物恐怖事件和重大传染病暴发流行的防控(注:本章中所指的病原微生物实验室特指从事与人体健康相关的病原微生物研究和操作的实验室)。

病原微生物实验室生物安全的核心是保护操作人员、防止病原微生物扩散至外环境。不同的国家或地区根据各国具体情况,制定的生物安全相关法律法规有所不同。我国也制定了相应的法律(《中华人民共和国传染病防治法》)和法规(国务院424号令《病原微生物实验室安全管理条例》、卫生部36号令《医疗卫生机构医疗废物管理办法》等),通过病原微生物的分类、实验室的分级、实验室感染的控制以及监督和法律责任等,加强对病原微生物实验室生物安全的管理。规定实验室必须采取有效控制措施,减少或消除实验室人员和环境暴露于具有潜在危害性的病原生物因子,以防止实验室感染和向外环境的扩散。

根据所研究病原微生物的危害程度或操作内容的不同,实验室应制定不同程度的控制措施和配备相应的设施设备、建立生物安全管理体系,包括实验室设计、风险评估、人员进入的限制、个人专业技术及培训、设施设备的使用和感染性材料的安全操作方法或技术等。

一、病原微生物危害程度分类

世界卫生组织(WHO)指出,各国(地区)应该按照病原微生物危险程度的等级,并根据当地具体情况,确定各国的病原微生物危害程度分类。其考虑的主要因素是:微生物的致病性,微生物的传播方式和宿主范围(受当地人群已有免疫水平、宿主群体的密度和流动、适宜传播媒介的存在以及环境卫生水平等因素的影响),当地所具备的有效预防措施(包括接种疫苗或抗血清预防)、卫生措施(例如食品和饮水的卫生)及动物宿主或节肢动物媒介的控制,当地所具备的有效治疗措施(包括被动免疫、暴露后接种疫苗以及抗生素、抗病毒药物和化学治疗药物以及耐药菌株出现的可能性等)。

我国根据病原微生物的传染性、感染后对个体或者群体的危害程度,将病原微生物分为四类,这一分类方法与WHO的分类有所不同。我国《病原微生物实验室安全管理条例》的病原微生物危害等级分类方法与《实验室生物安全通用要求》(GB 19489—2008,国际标准)和WHO《实验室生物安全手册》的分类的对应关系见附表1。

病原微生物的危害程度还与所研究或操作内容有关,我国卫生部颁布的《人间传染的病原微生物名录》中明确了具体病毒、细菌、放线菌、衣原体、支原体、立克次体、螺旋体和真菌等危害程度分类,对有关实验活动所需生物安全实验室级别,以及菌毒种或感染性样本运输包装分类等提出了相应的要求;在需要开展相关微生物学研究或菌毒种和标本运输时,应参照《人间传染的病原微生物名录》的要求执行。

附表 1 病原微生物的危害等级划分与标准

《病原微生物实验室生物安全管理条例》国务院 424 号令	《实验室生物安全通用要求》GB19489—2008	WHO《实验室生物安全手册》（第 3 版，2004 年）
四类 在通常情况下不会引起人类或者动物疾病的微生物	**Ⅰ级**（低个体危害，低群体危害）不会导致健康工作者和动物致病的细菌、真菌、病毒和寄生虫等生物因子	**Ⅰ级**（无或极低的个体和群体危险）不太可能引起人或动物致病的微生物
三类 能够引起人类或者动物疾病，但一般情况下对人、动物或者环境不构成严重危害，传播风险有限，实验室感染后很少引起严重疾病，并且具备有效治疗和预防措施的微生物，如腺病毒、肠道病毒、登革病毒、轮状病毒、各型肝炎病毒、风疹病毒、疱疹病毒、流行性感冒病毒、百日咳鲍特菌、破伤风梭菌、致病性大肠埃希菌、伤寒沙门菌、志贺菌属、脑膜炎奈瑟菌、沙眼衣原体、白假丝酵母菌等 *	**Ⅱ级**（中等个体危害，有限群体危害）能引起人或动物发病，但一般情况下对健康工作者、群体、家畜或环境不会引起严重危害的病原微生物。实验室感染不导致严重疾病，具备有效治疗和预防措施，并且传播风险有限	**Ⅱ级**（个体危险中等，群体危险低）病原微生物能够对人或动物致病，但对实验室工作人员、社区、牲畜或环境不易导致严重危害。实验室暴露也许会引起严重感染，但对感染有有效的预防和治疗措施，并且疾病传播的危险有限
二类 ** 能够引起人类或者动物严重疾病，比较容易直接或者间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的微生物，如汉坦病毒、高致病性禽流感病毒、艾滋病毒（Ⅰ型和Ⅱ型）、乙型脑炎病毒、脊髓灰质炎病毒、狂犬病病毒（街毒）、SARS 冠状病毒、炭疽芽胞杆菌、布鲁氏菌属、结核分枝杆菌、霍乱弧菌、鼠疫耶尔森菌等	**Ⅲ级**（高个体危害，低群体危害）能引起人类或动物严重疾病，或造成严重经济损失，但通常不能因偶尔接触而在个体间传播，或能使用抗生素、抗寄生虫药物治疗的病原微生物	**Ⅲ级**（个体危险高，群体危险低）病原微生物通常能引起人或者动物的严重疾病，但一般不会发生感染个体向其他个体的传播，并且对感染有有效的预防和治疗措施
一类 ** 能够引起人类或者动物非常严重疾病的微生物，以及我国尚未发现或者已经宣布消灭的微生物，如天花病毒、埃博拉病毒、猴痘病毒、亨德拉病毒等	**Ⅳ级**（高个体危害，高群体危害）能引起人或动物非常严重疾病，一般不能治愈，容易直接或间接或偶然接触在人与人，或动物与人，或人与动物，或动物与动物间传播的病原微生物	**Ⅳ级**（个体和群体危险均高）病原微生物通常能引起人或动物的严重疾病，并且很容易发生个体之间的直接或间接传播，对感染一般没有有效的预防和治疗措施

* 不同国家或地区根据微生物的流行情况、控制措施的有效性等，病原微生物列入的级别或类别有所不同

** 第一类、第二类病原微生物统称为**高致病性病原微生物**

二、病原微生物实验室的分级

我国根据实验室对病原微生物的生物安全防护水平（biosafety level，BSL），并依照实验室生物安全国家标准的规定，将实验室分为一级、二级、三级、四级。从事体外操作的实验室的相应生物安全防护水平分别以 BSL-1、BSL-2、BSL-3、BSL-4 表示；从事动物活体操作的实验室的相应生物安全防护水平（animal biosafety level，ABSL）分别以 ABSL-1、ABSL-2、ABSL-3、ABSL-4 表示。不同生物安全级别的实验室，所要求的实验室管理体系、设施设备、人员要求及个人防护不同，见附表 2。在确定实验室生物安全水平级别时，需考虑所操作的病原微生物种类、可利用的实验设施及实验室内从事安全工作所需要的仪器的操作和程序等。

我国法律法规明确规定一级、二级生物安全实验室不得从事高致病性病原微生物实验活动；三级、四级实验室必须获得上级有关主管部门批准后方可建设和从事相应的高致病性病原微生物实验活动。

病原微生物实验室设立单位应成立生物安全委员会并制定科学、严格的管理制度。明确实验室生物安全负责人及其职责，强化日常管理和菌毒种的管理；定期对实验室设施设备、材料等进行检查、维护和更新，合理处置废弃物，防止污染环境；实验室工作人员应掌握实验室技术规范、操作规程、生物安全防护知识和实

际操作技能；实验室应对工作人员进行生物安全培训和考核；实验室应具备符合要求的个人防护用品，包括防护服、口罩（必要时佩戴呼吸器）、手套、防护目镜、面部防护罩、鞋套、帽子等；应建立健康档案；进行预防接种等。

附表 2 病原微生物实验室分级

实验室生物安全级别 *	操作对象	实验室操作和个人防护	实验室主要的安全设施和设备
一级（BSL-1）	适用于操作在通常情况下不会引起人类或者动物疾病的微生物	微生物学操作技术规范	开放实验台
二级（BSL-2）	适用于操作能够引起人类或者动物疾病，但一般情况下对人、动物或者环境不构成严重危害，传播风险有限，实验室感染后很少引起严重疾病，并且具备有效治疗和预防措施的微生物	微生物学操作技术规范、个人防护服、生物危害标识、人员进入制度、健康监测、污染废弃物的处置	需用生物安全柜防护操作中可能生成的气溶胶 压力蒸汽灭菌器
三级（BSL-3）	适用于操作能够引起人类或者动物严重疾病，比较容易直接或者间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的微生物	在二级生物安全防护水平上增加特殊防护服、人员进入制度、上岗前体检、健康监测、污染废弃物的处置	负压、空气通过高效过滤器排出、生物安全柜或（及）其他所有生物安全实验室工作所需要的基本设备 双扉压力蒸汽灭菌器
四级（BSL-4）	适用于操作能够引起人类或者动物非常严重疾病的微生物，以及我国尚未发现或者已经宣布消灭，或没有预防治疗措施的微生物	在三级生物安全防护水平上增加气锁入口、出口淋浴、污染物品的特殊处理	Ⅲ级 BSC 或Ⅱ级 BSC 并穿着正压服、双扉压力蒸汽灭菌器 负压、空气通过高效过滤器排出

* 动物实验室的生物安全防护水平要高于体外操作的生物安全防护水平，在此不详细介绍。由于动物行为的不可控性，在进行动物实验过程中必须加强防护，并作好应急预案

三、病原微生物实验室的风险评估

实验室生物安全工作的核心是风险评估，可借助多种方法对特定操作程序或实验进行风险评估。风险评估应由熟悉相关病原微生物特性、实验室设备和设施、动物模型以及个人防护装备的专业人员进行。实验室生物安全的风险评估应是动态的，应及时收集相关的新资料和新信息，必要时对风险评估的结果进行修订。

在进行生物安全风险评估时，除考虑病原微生物的危害程度外，还应考虑其他因素，包括：①微生物的致病性和感染数量；②自然感染途径；③实验室操作所致的其他感染途径（非消化道途径、空气传播、食入）；④微生物在环境中的稳定性；⑤所操作微生物的浓度和浓缩标本的量；⑥暴露的潜在后果；⑦适宜宿主（人或动物）的存在；⑧已报道的实验室感染情况；⑨拟进行的操作（如超声处理、气溶胶化、离心等）；⑩可能会扩大微生物的宿主范围或改变微生物对于已知有效治疗方案敏感性的所有基因技术；⑪当地是否能进行有效的预防或治疗干预等。

根据风险评估结果，可确定拟开展的研究工作的生物安全水平级别，选择合适的生物安全水平级别实验室，采用相应的个体防护装备，并制定操作规范，以确保实验在生物安全的条件下开展。

如果在所操作的病原微生物有关信息有限时，可借助于患者的医学资料、流行病学资料（发病率和死亡率资料、可疑的传播途径、其他有关暴发的调查资料）及有关标本来源地的信息，判断标本的危险度。在研究暴发病因不明的疾病时，应参照卫生部、中国疾病控制中心和/或 WHO 制定的专门指南，指导标本应如何运输以及在标本操作时应按何种生物安全水平执行。

（瞿 涤）

参 考 文 献

[1]李凡,刘晶星.医学微生物学.第7版.北京:人民卫生出版社,2008

[2]贾文祥.医学微生物学.第2版.北京:人民卫生出版社,2010

[3]闻玉梅.精编现代医学微生物学.上海:复旦大学出版社,2002

[4]徐志凯.图表医学微生物学.北京:人民卫生出版社,2010

[5]戚中田.医学微生物学.第2版.北京:科学出版社,2009

[6]张卓然,黄敏.医学微生物实验学.第3版.北京:科学出版社,2008

[7]李凡,张凤民,黄敏.医学微生物学.第6版.北京:高等教育出版社,2010

[8]倪语星,尚红.临床微生物学检测.第5版.北京:人民卫生出版社,2012

[9]严杰,戴保民,于恩庶.钩端螺旋体病学.第3版,人民卫生出版社,2006

[10]胡伏莲,周殿元.幽门螺杆菌感染的基础与临床.北京:中国科学出版社,2009

[11] Jawetz, Melnick, Adelberg. Medical Microbiology. 25th ed.Appleton & Aange, 2010

[12] Lansing M.Prescott, Microbiology. 6th Edition, McGraw -Hill Higher Education Press, 2008

[13] David White.The physiology and biochemistry of prokaryotes. 3rd ed. Oxford Press, 2007

[14] Brooks GF, Carroll KC, Butel JS. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 25th ed. New York :McGraw Hill, 2010

[15] Lodé T.For Quite a Few Chromosomes More: The Origin of Eukaryotes. Journal of Molecular Biology, 2012, 423(2):135-142

[16] David M.Knipe, Peter M.Howley. Fields Virology. 4th ed.Lippincott Willianms & Wilkins, Philadelphia, 2001

[17] Lang AS, Zhaxybayeva O, Beatty JT. Gene transfer agents: phage-like elements of genetic exchange. Nat Rev Microbiol, 2012, 10(7):472-482

[18] Casas V, Maloy S. Role of bacteriophage-encoded exotoxins in the evolution of bacterial pathogens. Future Microbiol. 2011, 6(12):1461-1473

[19] Muzzi A, Donati C. Population genetics and evolution of the pan-genome of Streptococcus pneumoniae. Int J Med Microbiol, 2011, 301(8):619-622

[20] Wiedenbeck J, Cohan FM. Origins of bacterial diversity through horizontal genetic transfer and adaptation to new ecological niches. FEMS Microbiol Rev. 2011, 35(5):957-976

[21] Warren Levinson. Review of Medical Microbiology and Immunology. 12th ed. Lange McGraw-Hill, 2012

[22]温海,李若瑜.医学真菌学.北京:人民卫生出版社,2012

[23]中华人民共和国国务院令424号.病原微生物实验室生物安全管理条例.2004

[24]中国国家标准化管理委员会中华人民共和国国家质量监督检验防疫总局.GB 19489-2008 实验室生物安全通用要求.2008

[25]中华人民共和国国务院令第380号.医疗废弃物管理条例.2003

[26]祁国明.病原微生物试验室生物安全.北京:人民卫生出版社,2005

[27] WHO. Laboratory biosafety manual [S]. Atlanta: CDC, 2004

[28]中华人民共和国卫生部.人间传染病的病原微生物名录.2006

[29]中华人民共和国主席令[2004]第17号.中华人民共和国传染病防治法.2004

中英文名词对照索引

A

B

E

F

G

H

J

K

L

M

N

R

S

T

W

X

Y

Z

全国高等学校教材
供基础、临床、预防、口腔医学类专业用

1. 医用高等数学／第6版
2. 医学物理学／第8版
3. 基础化学／第8版
4. 有机化学／第8版
5. 医学生物学／第8版
6. 系统解剖学／第8版
7. 局部解剖学／第8版
8. 组织学与胚胎学／第8版
9. 生物化学与分子生物学／第8版
10. 生理学／第8版
11. 医学微生物学／第8版
12. 人体寄生虫学／第8版
13. 医学免疫学／第6版
14. 病理学／第8版
15. 病理生理学／第8版
16. 药理学／第8版
17. 医学心理学／第6版
18. 法医学／第6版
19. 诊断学／第8版
20. 医学影像学／第7版
21. 内科学／第8版
22. 外科学／第8版
23. 妇产科学／第8版
24. 儿科学／第8版
25. 神经病学／第7版
26. 精神病学／第7版
27. 传染病学／第8版
28. 眼科学／第8版
29. 耳鼻咽喉头颈外科学／第8版
30. 口腔科学／第8版
31. 皮肤性病学／第8版
32. 核医学／第8版
33. 流行病学／第8版
34. 卫生学／第8版
35. 预防医学／第6版
36. 中医学／第8版
37. 医学计算机应用／第5版
38. 体育／第5版
39. 医学细胞生物学／第5版
40. 医学遗传学／第6版
41. 临床药理学／第5版
42. 医学统计学／第6版
43. 医学伦理学／第4版
44. 临床流行病学与循证医学／第4版
45. 康复医学／第5版
46. 医学文献检索与论文写作／第4版
47. 卫生法／第4版
48. 医学导论／第4版
49. 全科医学概论／第4版
50. 麻醉学／第3版
51. 急诊与灾难医学／第2版
52. 医患沟通
53. 肿瘤学概论 *

全套教材均为卫生部“十二五”规划教材
全套教材（除 * 外）均为“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材

策划编辑 鲁志强 窦天舒 封面设计 李 蹊 郭 淼
责任编辑 鲁志强 孙雪冰 版式设计 赵京津 邹桂荣

本书附赠网络增值服务，激活方法：
1. 注册并登录人卫医学网教育频道（edu.ipmph.com）
2. 点击进入“网络增值服务”，搜索找到本书
3. 点击“激活”并输入“激活码”

人卫医学网 教育
edu.ipmph.com
刮开上网 享受增值

ISBN 978-7-117-17152-6
定 价：52.00 元